

THESIS

GIESSEN

1967

Aus dem Institut für Erbpathologie und Zuchthygiene
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Prof. Dr. G. W. Rieck

Untersuchungen an Serumenzyemen von
neugeborenen und mißgebildeten Kälbern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Carl Heinz Stuhr
Tierarzt aus Hamburg

Gießen 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus dem Institut für Erbpathologie und Zuchthygiene
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Prof. Dr. G. W. Rieck

Untersuchungen an Serumenzymen von
neugeborenen und mißgebildeten Kälbern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Carl Heinz Stuhr
Tierarzt aus Hamburg

Gießen 1967

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät in Gießen

Dekan: Professor Dr. F. Ulbrich

Berichterstatter: Professor Dr. G.W. Rieck

Tag der mündlichen Prüfung 8. Juli 1967

	Seite
A. Einleitung	1
B. Enzyme und Enzymwirkung in Physiologie und Medizin (Literaturübersicht)	2
I. Grundlagen der Fermentphysiologie	2
1. Chemische Physiologie	2
2. Genetik und Enzymsynthese	4
3. Enzyme in der klinischen Diagnostik	7
4. Enzymdefekte und medizinische Genetik	10
a) "Inborn errors of metabolism"	10
b) Mechanismus der Enzymopathien	13
aa) Albinismus	13
bb) Alkaptonurie	14
cc) Muskeldystrophien	14
5. Aktivitätsänderung von Enzymen in der embryonalen Entwicklung	15
6. Nachweis der Fermentaktivitäten im Serum	17
7. Biochemie und klinische Bedeutung der untersuchten Fermente	19
a) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GPT)	19
b) Alkalische und saure Phosphatase	23
c) Die Oxydoreduktasen MDH, GLDH, LDH und SDH	24
d) Aldolase	26
e) Creatin-Phosphokinase	27
8. Serum-Aktivitäten bei Kälbern mit morphologischen Anomalien	28
C. Durchführung der Untersuchungen	28
I. Material und Methodik	28
1. Versuchstiere	28
2. Untersuchungsmethoden	28
a) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	29
b) Glutamat-Pyruvat-Transaminase	30
c und d) Alkalische und saure Phosphatase	30
e) Lactat-Dehydrogenase	30
f) Malat-Dehydrogenase	31
g) Sorbit-Dehydrogenase	31
h) Glutamat-Dehydrogenase	32
i) Aldolase	32
k) Creatin-Phosphokinase	33

	Seite
II. Ergebnisse	34
1. Enzymwerte gesunder Kälber	34
2. Serum-Enzymspiegel von Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien	53
D. Diskussion	58
E. Zusammenfassung	61
F. Anhang	62
I. Versuchsprotokolle	62
G. Literaturverzeichnis	66
Lebenslauf	

A. Einleitung

Mit der Entdeckung des optischen Testes durch WARBURG und CHRISTIAN (1936) eröffnete sich ein weites Feld der Aktivitätsbestimmung von Enzymen im menschlichen und tierischen Organismus. Gerade in den letzten Jahren nahm das Schrifttum über die Enzymdiagnostik wesentlich zu. Die Arbeiten von WROBLEWSKI, KARMEN und LA DUE (1954) ermöglichten es zum Beispiel erstmals eine exakte und frühzeitige Diagnose beim Herzinfarkt des Menschen zu stellen. Sie beobachteten, daß das Ferment Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in bestimmten Stadien der Krankheit charakteristisch erhöht war und konnten so die Diagnose sichern und auf das Ausmaß der Erkrankung schließen. Auch bei anderen Erkrankungen wurden inzwischen spezielle Enzymwertanstiege festgestellt und zu einem wichtigen diagnostischen Hilfsmittel.

Außer in der Klinik und bei biochemischen Forschungen spielt heute die Enzymdiagnostik auch in der Genetik der Stoffwechselstörungen eine bedeutende Rolle. Im Vordergrund des Interesses stehen dabei die Enzymopathien. Die biochemische Genetik fand heraus, daß sich eine Gruppe von Erb-leiden, vornehmlich die angeborenen Stoffwechselstörungen, auf einen genbedingten Fermentdefekt zurückführen lassen. Es ist somit naheliegend, daß sich nicht nur patho-physiologische, sondern auch patho-morphologische Veränderungen als Folgen bestimmter Fermentdefekte herausstellen.

Auch in der Veterinärmedizin findet die Fermentbestimmung zur Diagnostik von Erkrankungen Anwendung. Die dazu notwendigen physiologischen Werte für Serumenzyme sind mit Ausnahme für die von neugeborenen Kälbern weitgehend erarbeitet. Aus diesem Grund wurde mir die Aufgabe gestellt, für neugeborene Kälber bis zu dem Alter von 4 Wochen die Normalwerte für die Serumenzyme

Glutamat-Pyruvat-Transaminase	Lactat-Dehydrogenase
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	Sorbit-Dehydrogenase
Aldolase	Glutamat-Dehydrogenase
Creatin-Phosphokinase	Alkalische Phosphatase
Malat-Dehydrogenase	Saure Phosphatase

festzustellen. Darüber hinaus sollen orientierende Untersuchungen über das Verhalten dieser zehn Enzyme bei Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien durchgeführt werden.

B. Enzyme und Enzymwirkung in Physiologie und Medizin
(Literaturbericht)

I. Grundlagen der Fermentphysiologie

1. Chemische Physiologie

Die Bedeutung der Fermente als Biokatalysatoren für die lebende tierische und pflanzliche Zelle wurde schon 1836 von BERZELIUS erkannt. Etwa 60 Jahre später gelang es BÜCHNER (1897) Gärungen mit zellfreien Preßsäften von Hefezellen zu erzielen. Dies war der erste Beweis dafür, daß sich chemische Prozesse lebender Organismen auf enzymatische Katalysen zurückführen lassen. In den folgenden Jahren wurden viele der heute bekannten Enzyme entdeckt und es wird noch für lange Zeit hinaus Ziel der enzymatischen Forschung sein einen umfassenden Überblick über das Fermentgeschehen zu gewinnen (SCHENCK und KOLB (1961)).

Die erste Reindarstellung eines Fermentes als kristalliner, globulinähnlicher Eiweißstoff gelang SUMNER (1926). Heute können eine ganze Reihe von Fermenten rein dargestellt werden, wobei es sich zeigte, daß es sich bei allen durchweg um Eiweißkörper handelt (LEUTHARDT (1963)). Im allgemeinen unterscheidet man bei den Fermenten zwischen einer niedermolekularen, nicht eiweißartigen Komponente, der Wirkungsgruppe oder dem Coferment, und dem hochmolekularen Proteinanteil, dem Apoferment. Bei einigen Fermenten gelang es bereits die Wirkungsgruppe durch Dialyse von dem Proteinteil zu trennen (Proteidfermente). Bei anderen, zum Beispiel Trypsin und Pepsin, konnte man kein besonderes Coferment isolieren, was zu der Annahme führte, daß hier bestimmte Gruppen des Eiweißmoleküls an der katalytischen Wirkung beteiligt sind. Apo- und Coferment sind für sich allein unwirksam, erst die Vereinigung zum Holoenzym (Holoferment) ergibt das wirksame Ferment (SCHEUNERT und TRAUTMANN (1965)). Früher wurde das Apoenzym einzig als kolloidaler Träger der chemisch wirksamen Gruppe angesehen. Heute nimmt man an, daß im Proteinanteil die Substratspezifität des Enzyms verankert ist. Das Apoferment gibt auch die Richtung der Reaktion an, indem es nur eine von zahlreichen thermodynamisch möglichen Umwandlungen des Stoffes katalysiert (LEUTHARDT (1963)).

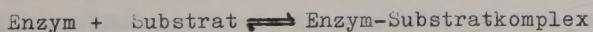
Bei der Wirkungsgruppe unterscheidet man zwischen dem Co-

ferment und der prosthetischen Gruppe. Das Coferment greift aktiv in die Reaktion ein, verändert sich und ein anderes Ferment wird nötig um das Coferment wieder in seinen ursprünglichen Zustand zurückzubringen. Bei Enzymen mit einer prosthetischen Gruppe, die fest an das Protein gebunden ist, kommt die katalytische Wirkung dadurch zustande, daß das Holoenzym gleichzeitig oder kurz hintereinander mit zwei verschiedenen Substraten reagiert und unverändert aus der Gesamtreaktion hervorgeht (KARLSON (1962)).

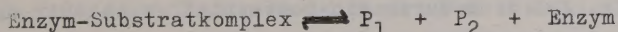
Bestimmte Bausteine der Cofermente können vom Körper nicht aufgebaut und müssen als Vorstufen (Vitamine) mit der Nahrung zugeführt werden. Beim Vitaminmangel kommt es zum Wachstumsstillstand und zu Krankheiterscheinungen. Für die Synthese von Fermentproteinen ist außerdem die Zufuhr von essentiellen Aminosäuren notwendig. Beim Eiweißmangel ist deshalb der Gehalt verschiedener Organe an bestimmten Fermenten herabgesetzt (SCHENCK und KOLB (1961)).

Mechanismus der Fermentwirkung

Jedes chemische System hat das Bestreben einen Endzustand zu erreichen, wobei der Betrag an freier Energie möglichst gering sein soll. Die meisten Reaktionen verlaufen jedoch infolge der Reaktionsträgheit der Moleküle nicht oder nur sehr langsam ab. Sie müssen, um in einen reaktionsfähigeren Zustand zu gelangen, aktiviert werden, das heißt, es muß Energie, die sogenannte Aktivierungsenergie, zugeführt werden. Die Aufgabe der Fermente besteht nun darin, diese Aktivierungsenergie herabzusetzen. Nach der Annahme von MICHAELIS und MENTEN geschieht dies, indem sich zunächst das Enzym mit dem Substrat zu einer lockeren, reversiblen Verbindung, dem Enzym-Substratkomplex bis zum chemischen Gleichgewicht verbindet. Für diese Bindung sind Ionenbeziehungen und Nebenvalenzen des Proteins verantwortlich.



Im folgenden zerfällt dieser Komplex wieder in das ursprüngliche Ferment und in die Produkte der Reaktion.



Die Geschwindigkeit der Reaktion hängt demnach von der Affinität des Fermentes zum Substrat und von dem Zerfall des Ferment-substratkomplexes ab (SCHEUNERT und TRAUTMANN (1965)).

Die Wirkung der Fermente ist auch bedingt von ihrem Milieu. So entfalten sie ihre volle Wirkung nur in einem bestimmten pH-Bereich, der meist schwach sauer oder alkalisch ist. Hat das Milieu einen stark sauren oder alkalischen Charakter, so werden sie als Eiweißkörper irreversibel geschädigt und fallen aus.

Für ihre Abhängigkeit von der Temperatur gilt, daß bei Temperaturzunahme ihre Aktivität wächst. Zum Beispiel nimmt bei Temperatursteigerung von 10°C ihre Aktivität um 100% zu. Bei hohen Temperaturen denaturieren sie.

Viele Enzyme benötigen bestimmte Ionen, um katalytisch wirksam zu sein. So braucht zum Beispiel die Amylase Cl-Ionen und die Phosphatase Mg-Ionen. Auf der anderen Seite werden Fermente durch Schwermetallionen gehemmt (RICHTERICH (1966)).

Im Experiment steigt bei konstanter Substrat- und zunehmender Fermentmenge die Reaktionsgeschwindigkeit linear an. Umgekehrt ergibt die Zunahme von Substrat bei konstanter Enzymmenge auch eine direkte Proportionalität. Die Abhängigkeit von Substrat zu Enzym gibt die MICHAELIS-Konstante an. Die Substratkonzentration, bei der die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht wird, ist gleich der Dissoziationskonstanten des Enzymsubstratkomplexes. Die MICHAELIS-Konstanten haben bei den meisten Enzymen Größen von 10^{-2} bis 10^{-5} Mol/Liter. Eine hohe MICHAELIS-Konstante zeigt, daß das Enzym zu dem Substrat keine hohe Affinität hat.

Durch die Reindarstellung vieler Enzyme war es möglich, die Umsatzrate eines Enzymmoleküls (Wechselzahl) in der Minute zu bestimmen. Eine hohe Wechselzahl bedeutet, daß die katalysierte Reaktion sehr rasch verläuft. So beträgt sie zum Beispiel $18 \cdot 10^6$ für Acetylcholinesterase (KARLSON (1962)).

2. Genetik und Enzymsynthese

Bis vor wenigen Jahren war es kaum vorstellbar auf welche Weise es der Natur möglich war, die Konstanz der Art und die Gleichförmigkeit der Lebensäußerungen aufrecht zu halten. Heute wissen wir, daß dies durch ein Codesystem geschieht, das auf der Molekularstruktur der genetischen Substanz, der DNS, beruht. Die Untersuchung der Vorgänge bei der Eiweißsynthese ergaben enge Beziehungen zwischen den Nucleinsäuren und dem Synthesemechanismus. Die grundlegende Arbeit, die zur Aufdeckung dieses

Informationssysteme führte, war die von WATSON und CRICK (1953) aufgestellte Matrizentheorie. Sie gab eine Erklärung der biochemischen Funktion der Nucleinsäuren speziell hinsichtlich der Replikation des DNS-Moleküls, dann aber auch bei der zellulären Synthese der Proteine.

Die hochmolekularen Nucleinsäuren, die Desoxyribonucleinsäure und die Ribonucleinsäure, sind Polynucleotide. Die Ribonucleinsäuren bestehen aus den Purin- und Pyrimidinbasen Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil, Ribose und Phosphorsäure, die Desoxyribonucleinsäure besitzt statt Uracil Thymin und statt Ribose Desoxyribose.

Nach WATSON und CRICK (1953) sind zwei Polynucleotidketten zu einer Doppelspirale zusammengefügt. Es liegt hierbei die Annahme zugrunde, daß je zwei Basen und zwar je ein Purin und Pyrimidin paarweise gekoppelt sind und durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden. Die Anordnung der Basenpaare (Sequenz) im DNS-Molekül ist die Grundlage der genetischen Information, wobei immer drei aufeinanderfolgende Basenpaare die genetische Information für die Synthese einer einzigen bestimmten Aminosäure liefern. Die Reduplikation des DNS-Moleküls kann man sich so vorstellen, daß die beiden Polynucleotidketten sich in einem bestimmten Stadium trennen. Jedes der beiden DNS-Moleküle dient dann als Matrize für die Bildung und Anlagerung der zu ergänzenden zweiten Kette.

Die Eiweißsynthese kann man sich so vorstellen, daß sich an den DNS-Strang phosphorylierende Nucleotide anlagern, die unter Verlust von Pyrophosphat eine polymere Kette bilden (BRENNER (1959)). Auf diese Weise entsteht die Messenger-RNS, welche nach ihrer Abgabe und Wanderung in das Cytoplasma den Code für die weitere Synthese besitzt. Währenddessen wurden die für die Eiweißbildung erforderlichen Aminosäuren durch lockere Bindung an lösliche RNS angelagert und durch ATP in eine energiereiche Form gebracht. Die Messenger-RNS diffundiert nun aus dem Kernbereich zu den Ribosomen des Cytoplasmas. Hierbei handelt es sich um fixe oder flottierende Strukturen des endoplasmatischen Retikulums, welche mit RNS besetzt sind. Die mit Aminosäuren beladenen RNS-Teilchen lagern sich an die Messenger-RNS an, wodurch die Festlegung der Sequenz der Eiweißkette erfolgt. Die Aminosäuren werden nun peptidisch gebunden und das fertige Eiweißmo-

lekül löst sich ab. Die Messenger-RNS hat damit ihre Funktion erfüllt und zerfällt wieder (SCHREIER (1963)).

Jedes echte Protein ist aber keine monomere Kette von Aminosäuren, sondern dreidimensional im Raum gefaltet (quaternäre Struktur der Eiweiße). BRAUNITZER, HILSCHMANN, MÜLLER (1960) fanden, daß die einzelnen Polypeptidketten der Eiweiße in ihrer Aminosäuresequenz sich nur wenig oder überhaupt nicht unterscheiden. Die Synthese der genetisch festliegenden, räumlichen Anordnung der Peptidketten kann man sich so vorstellen, daß in Stufenreaktionen an die primär gebildete Kette sich Einzelaminosäuren oder Peptide anlagern (SCHREIER (1963)).

Unter Genen verstehen wir demnach bestimmte Regionen in verschiedener Weise im Ruhekern der Zelle zu Strängen zusammengefaßte DNS-Fäden, die in der geschilderten Weise biochemisch aktiv werden. Die Gene sind in den Chromosomen in bestimmten Regionen angeordnet. Sie sind also in der Lage, die Bildung und die Struktur von Proteinmolekülen in den Zellen zu kontrollieren. Diese Konzeption wurde als Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese formuliert (BEADLE und TATUM (1941)). Sie wird heute durch die Ein-Cistron-Ein-Protein Hypothese ersetzt, wobei unter "Cistron" eine Untereinheit des Gens verstanden wird (KAUFMANN (1962)).

Die Kontrolle der Gen-Aktivitäten und damit auch der Synthese von Enzymen in der Zelle erfolgt nicht ausschließlich durch Gene, sondern hierbei sind auch spezifische Induktoren und Repressoren beteiligt. So ist es zum Beispiel zahlreichen primitiven Zellformen möglich, rasch sogenannte Adaptivenzyme zu synthetisieren, wenn ein entsprechendes Substratangebot vorliegt (BUCHER (1962)). Auch durch Hormone soll die Synthese von Enzymen angeregt werden (SCHOLE (1966)).

Damit ein Protein gebildet werden kann, müssen nach der Theorie von JACOB, PERRIN, SANCHEZ und MONOD (1960) mehrere Gene verschiedener Wirkungsgruppen zusammenarbeiten. Die Strukturgene bedingen die Aminosäuresequenz des zu synthetisierenden Proteins. Das Operator-Gen ist den Strukturgenen unmittelbar benachbart und bildet mit ihnen zusammen das sogenannte Operon. Man glaubt, daß am Operator-Gen die Zusammensetzung der Messenger-RNS beginnt, womit der Anfang der Aminosäuresequenz des Proteins

festgesetzt ist. Das Operator-Gen wird durch ein übergeordnetes

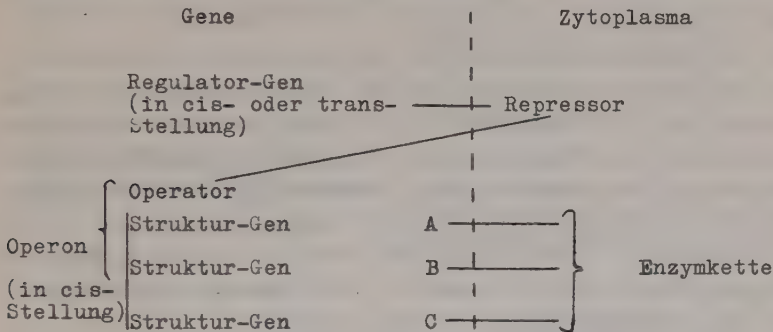


Abb. 1: Schema zur Operon-Hypothese (nach BÜCHER (1962))

Regulatorgen gesteuert, das ihm auf dem Chromosomenfaden nicht benachbart zu sein braucht, sondern auf heterologen Chromosomen liegen kann. Das Regulatorgen gibt sein Produkt, den Repressor, in das Cytoplasma ab. Diese Repressoren besitzen spezifische Affinitäten zu bestimmten Metaboliten. Unveränderte Repressoren wirken auf das Operator-Gen so ein, daß kein Produkt, zum Beispiel ein Enzym, gebildet werden kann. Mit bestimmten Substanzen, zum Beispiel Substraten von Enzymen, kombinierte Repressoren können das Operon nicht mehr blockieren, so daß entsprechende Produkte induziert werden können. In anderen repressorischen Systemen kann die Bildung des Genproduktes ausbleiben, wenn der Repressor nach Zusatz einer bestimmten Substanz aktiviert wird und die Enzymsynthese unterdrückt.

Dieser so geschaffene Rückkoppelungsmechanismus hat große physiologische Bedeutung, indem er die Übersynthese bestimmter Produkte verhindert. Gleichzeitig gibt diese Theorie auch eine Erklärung für dominante oder rezessive Erbgänge bei Mutationen. Je nachdem ob die Mutation am Operator- oder Regulatorgen stattfindet und die Sensibilität der drei für die Proteinsynthese notwendigen Faktoren beeinträchtigt, wird ein dominanter oder rezessiver Erbgang zu erwarten sein (FUHRMANN (1965)).

3. Enzyme in der klinischen Diagnostik

Die Verwendung von Enzymaktivitäten in der klinischen Diagnostik beruht darauf, daß unter pathologischen Verhältnissen der Enzymeinstrom aus den geschädigten Zellen in das Serum größer

ist als die Elimination von Fermenten unter physiologischen Bedingungen.

Da der mengenmäßige Anteil des Enzymproteins im Gesamteiweiß oder Plasma so gering ist, daß mit den gebräuchlichen Nachweismethoden keine Aussage über ihr Vorkommen gemacht werden kann, bedient man sich zum Nachweis ihrer Fähigkeit, chemische Umsätze zu katalysieren. Mit ihrer Hilfe in Meßküvetten ablaufende Reaktionen werden gemessen, wobei dann die Geschwindigkeit der ablaufenden katalysierten Reaktion als Maß für ihre Aktivität gilt. Die Größe dieser Aktivität ist im praktischen Gebrauch als proportional mit der vorliegenden Enzym-Menge anzusehen (F. und E. SCHMIDT (1965)). Die Abweichung von der oberen Grenze der Serumenzym-Normalwerte ist der Beweis für ein pathologisches Geschehen.

Für das Auftreten von enzymatischen Serumaktivitäten bei gesunden Individuen (Normalwerte) wird angenommen, daß durch den physiologischen Zellumsatz die untergehenden Zellen ihre Enzyme an das Serum abgeben (E. und F.W. SCHMIDT (1965)). Auch nach Steigerungen spezifischer Zelleistungen konnten Enzymanstiege beobachtet werden (ZIERLER (1958)).

Bei Erkrankungen von Zellen und Organen ist der Austritt von Fermenten aus der Zelle proportional der Schwere der Erkrankung (BEYREDER, RETTENBACHER-DÄUBNER (1959)). Man nimmt zur Erklärung dafür an, daß durch eine Schädigung des Energiestoffwechsels die Leistungsfähigkeit der Zellgrenzschicht nachläßt, und Enzyme in den extrazellulären Raum austreten. Dies konnte experimentell bei Mitochondrienschädigung durch Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff und eines darauf folgenden erhöhten Enzymspiegels bewiesen werden (RECKNAGEL und ANTHONY (1959)).

Wie NYDICK, RUEGSEGGGER, WROBLEWSKI und LA DUE (1957) bewiesen, müssen Zellnekrosen nicht immer eine Steigerung der Serumenzym-Aktivität zur Folge haben. Zu dem gleichen Ergebnis kam HAEDERLE (1963).

Um bei erhöhten Fermentwerten eine Diagnose stellen zu können, muß über ihre Organherkunft, ihren Sitz in der Zelle und ihre Funktion Klarheit herrschen. BÜCHER und BAUM (1958) teilten deshalb im Blutplasma anzutreffende Fermente folgendermaßen ein:

Gruppe	Beispiele
plasma-spezifische Enzyme	Prothrombin, Plasminogen, Coerulon-plasmin, Lipoprotein-Lipase, Pseudo-cholinesterase
Sekret-Enzyme	Pankreas-, Parotis- α -Amylase; Prostata-Phosphatase, Pepsinogen
Zell-Enzyme (Enzyme des Gewebestoffwechsels) Hauptketten-Enzyme	Lactat-, Malat-, α -Glycerophosphat-Dehydrogenase; 1.6-Diphospho-Fructaldolase; Glutamat-Oxalacetat- und Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Organspezifische Enzyme	Leber: Harnstoff-Cyclus, Sorbit-Dehydrogenase, 1-Phospho-Fructaldolase, Glucose-6-Phosphatase Knochen:alkalische Phosphatase

Tab. 1 Gliederung der im Blutplasma vorkommenden Enzyme nach Funktion und Herkunft (nach BERGMAYER (1962)).

Danach werden bei den im Blutplasma anzutreffenden Enzymen plasmaspezifische Enzyme, Sekretenzyme und Zellenzyme unterschieden.

Als plasmaspezifische Fermente gelten solche, die ihre eigentliche Funktion im Plasma erfüllen. Sie werden von bestimmten Organen, wie zum Beispiel von der Leber die Blutgerinnungsenzyme, aktiv in das Plasma sezerniert. Sind ihre Herkunftsorgane geschädigt, so sinkt auch ihre Aktivitätsmenge entsprechend ab.

Sekretenzyme werden aus Zellen mit spezifischer Leistung sezerniert und wirken außerhalb ihres Bildungsortes, wie zum Beispiel die Verdauungsenzyme.

Die Zellenzyme werden in Hauptkettenenzyme, das sind solche, die ubiquitär im Organismus zu finden sind und die Reaktion des intermediären Stoffwechsels katalysieren, und in organspezifische Enzyme unterteilt. Die Zellenzyme werden heute fast ausschließlich in der klinischen Enzymdiagnostik verwendet.

Die einzelnen Organe sind entsprechend ihrer Funktion, sowohl qualitativ als auch quantitativ, unterschiedlich mit Fermenten ausgestattet. Man kann so für jedes Organ ein charakteristisches Enzymmuster oder Enzymverteilungsmuster angeben, das durch die Aktivitätsverhältnisse von Gruppen ähnlicher Enzyme mit unterschiedlichen Substratspezifitäten aufgestellt werden kann (E. und

F. W. SCHMIDT (1965)). Wird ein Organ geschädigt, so treten entsprechend dem Enzymmuster Fermente in das Serum über. Durch Vergleich mit den bekannten Relationen dieser Enzyme unter physiologischen Verhältnissen, durch Messung von organspezifischen Enzymen oder durch Bestimmung von Iso-Enzymen kann so der Ort der Schädigung lokalisiert werden.

Häufig wird im Serum aber nur ein verzerrtes Abbild des Organenzymusters gefunden. Als Ursache dafür wird angesehen, daß die Fermente in den Zellen im Cytoplasma, in den Mitochondrien oder auch in beiden vorhanden sein können und mit unterschiedlicher Intensität in das Serum aus der Zelle austreten. Weiterhin können mehrere Organe erkrankt sein, so daß sich mehrere Enzymmuster überlagern. Schließlich haben die Fermente auch verschiedene Halbwertszeiten durch ihre unterschiedlich schnelle Elimination. Eine klinisch diagnostische Verwertung im Sinne einer Herkunftsbestimmung von Serumenzymen ist aus diesen Gründen nur bei großer Erfahrung und in einfach gelagerten Fällen möglich. Bei bekannter Lokalisation gibt die Analyse der gefundenen Serumenzymaktivitäten Aufschluß über den Grad und die Art der Schädigung (E. und F.W. SCHMIDT (1965)). Einen gewissen Wert hat die Bestimmung von Enzymverteilungsmustern auch zur Überwachung von Krankheitsabläufen, bei denen Komplikationen frühzeitig erfaßt werden können (GERBER (1963)).

4. Enzymdefekte und medizinische Genetik

a) "Inborn errors of metabolism" (GARROD (1923))

GARROD beschrieb 1902 den genetisch bedingten Enzymdefekt der Alkaptonurie und begründete damit einen neuen Zweig der Medizin, die Genetik der Stoffwechselstörungen. Schon lange vor ihm hatten Mediziner wie WOLLASTON, KIRK und die Freiburger Biochemiker BAUMANN und WOLKOW Substanzen im Harn von kranken Menschen festgestellt, die bei gesunden Individuen nicht vorkommen. GARROD gebührt das Verdienst beschrieben zu haben, daß es sich bei diesen Erscheinungen um rezessiv vererbte Stoffwechselstörungen handelt; er nannte sie "Inborn errors of metabolism." Heute sind eine ganze Reihe solcher Stoffwechselstörungen bei Mensch und Tier beschrieben worden.

Bei einem Großteil dieser Stoffwechselstörungen sind Enzyme oder funktionell wichtige Proteine betroffen, indem ihre Amino-

säuresequenz verändert ist. Man bezeichnet sie deshalb auch im Gegensatz zu den morphologischen Anomalien als biochemische Mißbildungen. Als Ursache kann eine Mutation des Bauplanes der Protein- bzw. Enzym-Synthese angesehen werden (LINNEWEH (1962)).

Je nach der Bedeutung des betroffenen Enzyms und dem Ausmaß der Abweichung sind auch die Folgen unterschiedlich. Entweder handelt es sich um eine harmlose Anomalie, oder es kommt zu einer mehr oder weniger schweren Erkrankung. Der genetisch bedingte Defekt kann quantitative oder qualitative Änderungen von Stoffwechselvorgängen zur Folge haben. Ersteres ist der Fall bei den totalen Ausfällen, den Anenzymien, zum Beispiel der Alaktasie, Galaktosämie und der Akatalasie, oder Plasmaproteindefekten wie der Agammaglobulinämie und der Analbumie. Qualitative Folgeerscheinungen sind bei den Syntheseanomalien, wie den Dysenzymien, zum Beispiel der Sichelzellenanämie vorhanden (ÄEBI (1963)).

Krankheit, Anomalie (Jahr der ersten Beschreibung)	Fehlendes Enzym (zur Verifizierung verwendbares Gewebe)
Phenylketonurie 1934	1-Phenylalaninhydroxylase (Leber)
Alkaptonurie (1584) 1902	Homogentisinsäureoxydase (Leber)
Histidinämie 1961	Histidase (Leber, Haut)
Albinismus 1902	Tyrosinase (Haut)
Cystinurie (1810) 1902	Störung der tubulären Rückresorption von Diaminommonokarbonsäuren
Ahorn-Sirup-Krankheit (Leuzinose) 1954	Decarboxylase?
Glykokoll-Krankheit (Glycinurie) 1961	Renale Permeabilitätsstörung oder Enzym-Defekt
Oxalose 1925	Glyoxylsäuredecarboxylase
Argininbernsteinsäure-Aus- scheidung (Argininosuccinurie) 1958	Succinoarginase (Erythrozyten)
Galaktosämie 1917	Galaktose-1-Phosphat-Uridyl- Transferase (Erythrozyten)
Fructose-Intoleranz 1957	1-Phosphofruktaldolase (Leber)
Pentosurie 1902	NADP-Xylit-Dehydrogenase
Essentielle Fruktosurie 1929	Fruktokinase (Leber)
Alaktasie 1959	Laktase (Dünndarm)
Saccharose-Intoleranz 1960	Saccharase (Dünndarm)
Glykogenspeicher-Krankheiten, total 6 Typen, z.B. Typ 1 (v. Gierke) 1929	Glukose-6-Phosphatase (Leber)
Lipoidspeicherkrankheiten, z.B. Niemann-Pick 1914	Enzym-Defekt noch nicht lokali- siert!
Dys-cholinesterasämie (Suxa- methonium-Empfindlichkeit) 1952	Abnorme Substratspezifität der Pseudocholinesterase (Serum)

Fortsetzung:

Krankheit, Anomalie (Jahr der ersten Beschreibung)	Fehlendes Enzym (zur Verifizierung verwendbares Gewebe)
Akatalasie (Akatalasämie) 1947	Katalase (Leber, Mukosa, Erythrozyten)
Favismus (Primaquine- Empfindlichkeit) 1926	Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Erythrozyten)
Methämoglobinämie (Typ Gibson) 1948	Methämoglobinreduktase (Erythrozyten)
Nicht-hämolytische Hyper- bilirubinämie 1952	Glukuronyltransferase (Leber)
Wilsonsche Krankheit (hepatolentikuläre Degenera- tion) 1912	Defekt im Coeruloplasmin-Stoff- wechsel
Progressive Muskeldystrophie; z.B. Typ 3 (Duchenne) (1954)	Permeabilitätsstörung im Sarko- lemm

Tab. 2 Lokalisierung von Enzymdefekten bei einigen angeborenen Stoffwechselstörungen (nach AEBI (1963)).

Die meisten angeborenen Stoffwechselanomalien werden rezessiv vererbt. Die Krankheit kann also nur dann manifest werden, wenn Homozygotie besteht. Das betreffende Enzym kann dann nicht mehr normal gebildet werden (SCHREIER (1962)).

In der Gesamtpopulation liegt bei den meisten Individuen Homozygotie für die Loci der Enzymbildung vor, und damit kommt die Fermentaktivität voll zur Wirkung. Ein geringerer Prozentsatz wird heterozygot sein und die Anlage zu einer Stoffwechselanomalie weitergeben können. Diese Anlageträger haben, wie experimentell bewiesen werden konnte, nur 50% der Fermentaktivität gesunder Individuen. Trotzdem erkrankten die Träger nicht, da das in der Zelle immer noch vorhandene Enzym in ausreichender Menge zum Substratangebot vorliegt. Bei den homozygoten Anlageträgern kommt die Krankheit zum Ausbruch (LENZ (1961)).

Durch den Ausfall eines Fermentes können ein oder mehrere Gewebe geschädigt werden. Ersteres ist vor allem dann der Fall, wenn das für die Fermentsynthese notwendige Gen schon zum Zeitpunkt der Konzeption geschädigt war. Ein Beispiel ist die Galaktosämie. Hier fehlt das Ferment Phosphogalaktose-uridylyltransferase, das Galaktose in Glucose umsetzt. Die Galaktose erscheint unverändert im Harn. Außerdem verursacht die Galaktosurie eine Störung der Rückresorption von vielen Aminosäuren in den Nierentubuli. Es ergibt sich somit eine Aminosäureunterbilanz, die

Leberschädigung (Zirrhose), Katarakte und schwere körperliche und geistige Entwicklungsstörung nach sich zieht (SCHREIER (1962)).

Die hereditäre metabolische Entgleisung der Nebenniere kann als Beispiel dafür gelten, daß auch der Stoffwechsel eines einzigen Organes durch Enzymdefekte geschädigt werden kann. Es kommt so zu einem Anstieg der Androgene, die bei Knaben Pubertas praecox mit Addisonkrisen, bei Mädchen eine Virilisierung hervorrufen (PRADER (1962)).

b) Mechanismus der Enzymopathien

Der Intermediärstoffwechsel kann als eine Kette von Reaktionen angesehen werden, in der ein Produkt durch fermentative Wirkung in das andere umgewandelt wird. Unterbricht der Ausfall eines Fermentes den Reaktionsablauf, so häufen sich die Produkte vor dem Enzymeinsatz an (Enzymblock). Dadurch werden die Gleichgewichte der vorgeschalteten Reaktionen verlagert und es entstehen Intermediärprodukte in großer Menge. Den Körperzellen fehlt so einmal das nicht gebildete Reaktionsprodukt, andererseits häufen sich in ihnen die unter normalen Bedingungen nur in geringer Menge vorliegenden Reaktionsprodukte an. Die nicht weiter umgesetzten Stoffe gehen in das Blut und werden meistens mit dem Harn ausgeschieden. Gleichzeitig kann durch sie oft eine toxische Wirkung beobachtet werden, wobei das für diese empfindlichste Organ, meistens das Gehirn, die klinischen Erscheinungen beherrscht (SCHREIER (1962)).

Im folgenden sollen drei erbliche Stoffwechselkrankheiten des Tyrosinstoffwechsels, der Albinismus, die Alkaptonurie und die Tyrosinose beschrieben werden.

aa) Der Albinismus ist durch das Fehlen des Pigmentfarbstoffes Melanin charakterisiert. Melanin kann nicht durch den Ausfall des Fermentes Tyrosinase bzw. dessen Vorstufe Dihydroxyphenylalanin gebildet werden. Durch den Mangel oder das Fehlen von Melanin in der Haut werden keine ernststen klinischen Erscheinungen hervorgerufen. Die Haare sind bei den Albinos besonders zart und seidig. Die von dieser Krankheit befallenen Individuen sind infolge des Pigmentmangels der Iris mehr oder weniger lichtempfindlich. Totaler Albinismus ist relativ häufig mit Augen-anomalien (Astigmatismus, Linsenanomalien, Skotomen) verge-

sellschaftet. Die Sehkraft ist durch Anfälligkeit der Makula bei grellem Licht meistens herabgesetzt.

Der Albinismus wird rezessiv vererbt. Es sind aber auch Hinweise dafür vorhanden, daß ein geschlechtsgebundener oder ein dominanter Erbgang vorliegen kann.

bb) Die biochemische Grundlage der Alkaptonurie muß als der Ausfall oder die Inaktivität des Fermentes Homogenitinsäureoxydase angesehen werden. In der Leber oder der Niere kann so nicht die Homogenitinsäure zu Maleylacetoacetat weiter verarbeitet werden. Sie wird mit ihrem Lacton und Äthylester im Urin ausgeschieden. Durch Polymerisation und Oxydation wird die Homogenitinsäure zu Alkapton umgewandelt, wodurch der Harn bei längerem Stehenlassen schwarz gefärbt wird.

Im Laufe des Lebens kommt es an den Stellen mit besonders niedriger Stoffwechselaktivität zur Anreicherung und Polymerisation von Homogenitinsäure. Es entwickelt sich eine Ochronose. Bestimmte Hautstellen, Knorpel und Sehnen sind blaugrau bis schwarz verfärbt. Etwa die Hälfte der Anomalieträger entwickelt vom 40. Lebensjahr ab Gelenksbeschwerden, da die Knorpel durch Hemmung der Hyaluronidase durch Homogenitinsäure ihre Elastizität verlieren, rissig werden und absplintern (Osteoarthrose, Chondrosis dissecans ochronotica).

Die vereinzelt beschriebenen Fälle von Tyrosylurie bei Kindern und Erwachsenen beruhen auf der mangelnden Aktivität von Fermenten Tyrosin oder p.-Hydroxyphenylbrenztraubensäure weiter im Tyrosinstoffwechsel zu Homogenitinsäure umzuwandeln (SCHREIER (1962)).

cc) Muskeldystrophien

Bei den genetisch bedingten Veränderungen der Muskulatur werden ursächlich bis jetzt noch unbekannte Störungen in verschiedenen Schritten des Muskelstoffwechsels vermutet, wobei Mutationen an bestimmten Genloci zugrunde liegen sollen. Diese Störungen führen alle zu dem unspezifischen anatomischen Resultat der Dystrophie. Das mikroskopische Bild ist durch das Nebeneinander gequollener, hypertrophischer und abnorm dünner Muskelfasern gekennzeichnet. Das interstitielle Bindegewebe wuchert und Fett wird eingelagert. Die Muskelveränderungen sind durch das

Auftreten biochemischer Veränderungen gekennzeichnet, die bei den verschiedenen Formen unterschiedlich ausgeprägt und als Sekundärererscheinungen zu deuten sind. Zahlreiche Enzyme erscheinen, durch erhöhte Zellmembran-Permeabilität bedingt, mit erhöhter Aktivität im Serum. Vor allem ist die Creatin-Phosphokinase erhöht, es folgen die Aldolase, die Glutamat-Pyruvat-Transaminase, die Lactat-Dehydrogenase und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (FUHRMANN (1965)).

5. Aktivitätsänderungen von Enzymen in der embryonalen Entwicklung

Morphologische Merkmale werden durch Gene determiniert. Abweichungen von der normalen Entwicklung können durch Mutationen, das heißt durch fehlerhafte Genprodukte bedingt sein. Die Manifestation genetisch bedingter Anomalien kann bei Einwirkung entsprechender exogener teratogener Faktoren gefördert werden und umgekehrt können exogene Faktoren nur dann mißbildend wirken, wenn ein für sie labiler Genotyp vorhanden ist (WARKANY (1966)).

Es ist bis heute aber weitgehend unbekannt wie die Steuerung der Morphogenese durch Gene vor sich geht. Die Brücke zu schlagen vom molekularen, biochemischen Bereich zum mikroskopischen anatomischen und physiologischen Erscheinungsbild ist mit den heutigen Kenntnissen noch nicht möglich. Infolgedessen kann man sich auch nicht vorstellen, wie der Ablauf der Vorgänge von einer Gen-Mutation bis zur abnormen Ausbildung eines Organes zu deuten ist (FUHRMANN (1965)). Zur Förderung dieser Erkenntnis müßten sämtliche für tierische Organismen lebenswichtige und zur Zeit bekannte Enzymsysteme auf den Ausfall (Blockierung) oder auf herabgesetzte Aktivität überprüft werden. Dies ist ein heute unmögliches Unterfangen (HADORN (1955)). Durch Phänokopieversuche gelingt es, Mißbildungen aller Organe bei allen Tierspezies hervorzurufen. Es werden hierbei durch mehrere Gruppen exogener Faktoren, zum Beispiel chemischen Reagentien wie Insulin, Borsäure und Filokarpin und vielen anderen Veränderungen in der Phänogenese eines Genotypes hervorgerufen (GOLDSCHMIDT (1935)). Diese wirken auf die in der Entwicklung befindlichen Somazellen; die entstandenen Modifikationen sind daher nicht erblich, sofern die Zellen der Keimbahn unbeeinträchtigt bleiben, und das Individuum lebensfähig und vermehrungsfähig ist. Durch solche Versuche können

aber die entwicklungsmechanischen Vorgänge aufgezeigt werden, wie sie ähnlich bei Veränderungen der Erbsubstanz oder bei genetisch bedingten Defekten vor sich gehen könnte (HADORN (1955)). Bei teratogenetischen Versuchen am Hühnchenkeim wirken z.B. Borsäure, Insulin und Pilocarpin bei Injektion in den Eidotter in der ersten Embryonalphase unspezifisch gleichartig, wenn auch mit unterschiedlichem prozentualen Erfolg, indem sie die Skelettbildung im Schwanz- und Sakralbereich beeinträchtigen (Kaulhuhn-Phänokopie). In der zweiten Embryonalphase wird der Wirkungsbereich auf das Extremitäten- und Kopfskelett verlagert. Jetzt manifestieren sich stoffspezifische Unterschiede, die vergleichbar sind mit locus-spezifischen Unterschieden in den Manifestationen von Mutanten. Insulin phänokopiert die short-upperbeak Merkmale und Pilocarpin ruft Syndaktylie hervor, die phänisch mit bekannten erbbedingten Anomalien des Huhnes übereinstimmt. Die Auswirkung von Borsäure läßt sich nicht mit bekannten vererbten Anomalien vergleichen. Hier stimmen die Resultate mehr mit dem beim Menschen und beim Rind (Akroteriasis) beobachteten Erscheinungen wie Unterkieferverkürzung und Fehlen der distalen Abschnitte des Skelettes überein (HADORN (1955)).

Zur Erklärung dieser mit chemischen Reagentien hervorgerufenen entwicklungsmechanischen Defekte wird angenommen, daß sie in ähnlicher, aber doch spezifischer Stelle in den Kohlenhydratstoffwechsel eingreifen. Sie blockieren dabei die Synthese von Enzymsystemen (LANDAUER (1954)), wobei wahrscheinlich die Co-Fermente betroffen werden.

RAPOPORT (1947) berichtet über Experimente mit Chemikalien, die als Hemmer von Enzymen wirken. Werden nun gerade in einer spezifischen Entwicklungsphase Ansprüche an das Funktionieren des Enzymsystems gestellt, so muß es zu Schädigungen kommen, die vergleichbar mit Gen-Mutationen sind.

Phänokopieversuche wurden mit Erfolg mit extremen Temperaturen durchgeführt. Diese beruhen auf der Inaktivierung von Enzymsystemen, die ja auf bestimmte Temperatur-Optima eingestellt sind (HENKE, FINK und MA (1941)).

Sauerstoffmangel wird als einer der Hauptursachen für das Entstehen von morphologischen Anomalien angesehen (BÜCHNER und M. (1948)). Die teratogene Wirkungsweise der Hypoxie ist darin zu

suchen, daß eine Reihe von Fermentsystemen gestört wird. Weiterhin kann auch Sauerstoffmangel die Synthese von Nucleinsäuren und Proteinen hemmen und so zu strukturellen Veränderungen des Embryos führen.

6. Nachweis der Fermentaktivität im Serum

Bei den verschiedenen Methoden der Fermentbestimmung im Serum werden chemische und physikalische Eigenschaften der Substrate oder Produkte der Fermentreaktion benutzt. Mit physikalischen Methoden werden Fermente nachgewiesen, wenn bei der enzymatisch ablaufenden Reaktion größere Änderungen der Viskosität, des optischen Drehvermögens, der Oberflächenspannung, des Brechungsindex und der Leitfähigkeit eintreten. Besondere Bedeutung haben gasvolumetrische und manometrische Verfahren. Die Einführung elektrophoretischer Methoden hat sehr empfindliche Nachweismöglichkeiten für Fermente gebracht (AMMON und MYRBÄCK (1959)). Heute wird zur Routinebestimmung von Fermenten der optische Test von WARBURG und CHRISTIAN (1936) bevorzugt.

Optischer Test

WARBURG und CHRISTIAN (1936) beschrieben ein einfaches Meßprinzip zur Bestimmung Wasserstoff übertragender Fermente. Es wird dabei die Oxydation von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH_2) oder die Reduktion von NAD gemessen.



Sie beruht darauf, daß NADH_2 Lichtstrahlen von der Wellenlänge 340 nm oder 366 nm¹⁾ stark absorbiert, NAD jedoch nicht. Im Strahlengang eines Photometers, das Lichtstrahlen von diesen Wellenlängen aussendet, kann der Ablauf der Reaktion, bei der NADH_2 entsteht oder verbraucht wird, verfolgt werden. Auf der Skala des Photometers wird die Extinktionsdifferenz des Lichtstrahles vom Beginn der Reaktion bis zu ihrem Ende abgelesen. Sie ist ein direktes Maß für die Schnelligkeit der ablaufenden Reaktion und damit für die Aktivität des wirkenden Enzymes.

Das gleiche gilt für solche Reaktionen, deren Reaktionsprodukte in einer gekoppelten, sekundären NADH_2 abhängigen Reaktion gemessen werden, im sogenannten zusammengesetzten optischen

1) nm = Nanometer

Test. Durch eine derartige Indikatorreaktion wird zu jedem Zeitpunkt der zu messenden Reaktion die Menge an primär entstehenden Reaktionsprodukten angezeigt. Bei der Messung der Aktivität mancher Enzyme wird noch zwischen Meß- und Indikatorreaktion eine Hilfsreaktion eingeschaltet.

Im optischen Test wird im Gegensatz zu physiologischen Bedingungen stets mit optimaler Substratkonzentration gearbeitet, damit ein linearer Reaktionsablauf gewährleistet ist. Das Substrat, durch dessen Zugabe die Reaktion gestartet wird, soll rein sein, um Fehlresultate zu vermeiden (RICHTERICH (1966)).

In der Anfangsphase der Reaktion darf die Hemmung durch Substratabnahme, durch Anhäufung von Reaktionsprodukten und durch Inaktivierung der Fermente vernachlässigt werden. Aus diesen Gründen wird die Anfangsgeschwindigkeit bei Substratsättigung für alle optischen Bestimmungsverfahren als Methode der Wahl angesehen (GERBER (1963)).

Der optimale pH-Wert für die Aktivität des zu messenden Enzyms wird mit Hilfe eines geeigneten Puffers gleichgehalten. Auch auf Temperaturkonstanz ist zu achten.

Beim zusammengesetzten optischen Test muß ein mehr als 100-facher Überschuß an Indikator-Enzym eingesetzt werden, damit gewährleistet wird, daß die eigentliche Meßreaktion zu jedem Zeitpunkt angezeigt wird (RICHTERICH (1966)).

Nachdem 1961 von mehreren internationalen Vereinigungen¹⁾ Richtlinien für die Wahl von Enzymeinheiten festgelegt wurden, sollen Enzymaktivitäten nur noch in internationalen Einheiten angegeben werden. Als eine solche internationale Einheit (IU) wird der μMol Substratumsatz in der Minute bei einer Meßtemperatur von $+ 25^{\circ}\text{C}$ angesehen. Im biologischen Material soll auf 1 ml bzw. 1000 ml bezogen werden (RICHTERICH (1966)).

$$\text{IU} = \mu\text{Mol min}^{-1} \text{ Liter}^{-1}$$

Im UV-Test, der bei Wellenlängen von 340 nm oder 366 nm durchgeführt wird, kann der Reaktionsablauf direkt gemessen werden.

1) International Union of Biochemists

International Union of Pure and Applied Chemistry

International Federation of Clinical Biochemistry

beim Farbttest gilt die Intensität der Färbung des Produktes nach einer bestimmten Inkubationsdauer als Maß für die Fermentaktivität. Sie wird bei der Wellenlänge von 405 nm durchgeführt.

gegeben:	Zur Umrechnung in mU/ml multipliziere mit:
1. NAD/NADP-(DPN TPN) abhängige Reaktionen.	
Bücher et al 25°C, 1 ml, 100 sec; E. 366 = 0,100	18,2
Wróblewski et al. 25°C, 3 ml, 1 min; 1E.340 = 0,001	0,48
Amelung u. Horn 25°C, 1 Mol:Std./ml	16,7
Holzer u. Gerlach 24°C, 3 ml, 1 min; E.366 = 0,001	0,91
2. Aldolase	
Bruns 37°C, 1 µFructose-1,6-diphosphat/Std./ml	0,61 (bei 37°C)
Schapira et al. 37°C, 1 mg Triosephosphat-p/1 minX1000ml	16 (bei 37°C)
3. Alkalische Phosphatase:	
King-Armstrong 37°C, 1 mg Phenol/15 min/100 ml	7,1 (bei 37°C)
Bessey-Lowry (auch saure Phosphatase) 37°C, 1 mMol p-Nitrophenol/Std./1000 ml	16,7 (bei 37°C)
Bodansky (auch saure Phosphatase) 37°C, 1 mg P/Std./100 ml	5,4 (bei 37°C)
4. Saure Phosphatase:	
King-Armstrong 37°C, 1 mg Phenol/Std./100 ml	1,8 (bei 37°C)

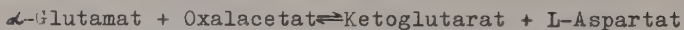
Tab. 3 Umrechnungsfaktoren einiger Enzym-Einheiten in Internationale Einheiten (nach E. und F.W. SCHMIDT (1966))

7. Biochemie und klinische Bedeutung der untersuchten Fermente

a) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Bei der Synthese von Aminosäuren im Intermediärstoffwechsel besteht neben der reduktiven Aminierung von α -Ketosäuren die Möglichkeit der Transaminierung. Die Bildung von Aminosäuren erfolgt dabei durch die Übertragung der Aminogruppe einer Aminosäure auf eine α -Ketosäure. Die diesen Vorgang der Transaminierung beschleunigenden Fermente bezeichnet man als Transaminasen. Sie haben als Co-Ferment NAD (GÜRTLER und RICHTER (1959)).

aa) Die GOT katalysiert die reversible Reaktion



In der letzten Zeit wurde die GOT rein aus Schweineherzmuskel isoliert und seine Eigenschaften beschrieben (CAMARATA und COHEN (1951)). Bei Tier und Mensch sind die höchsten Aktivitäten im Herzmuskel anzutreffen. Weiter hat die Skelettmuskulatur und die Leber einen hohen Gehalt an GOT, während andere Organe bedeutend niedrigere Aktivitäten besitzen (BERGMAYER (1962)). Daraus ergibt sich, daß bei einer Erkrankung von Herz- und Skelettmuskulatur mit einem beträchtlichen Anstieg der Fermentkonzentrationen im Serum zu rechnen ist.

bb) Die Glutamat-Pyruvat-Transaminase beschleunigt folgendes System: L-Glutaminsäure + Brenztraubensäure $\rightleftharpoons$ α -Ketoglutar-säure + Alanin

In den letzten Jahren gelang es (GREEN und PFLEIDERER (1958)) das Ferment rein zu kristallisieren. Im menschlichen Organismus hat das Ferment die höchste Aktivität in der Leber und nimmt bei den übrigen Organen in der Reihenfolge Niere, Herz, skelettmuskel, Pankreas, Milz und Lunge ab (WROBLEWSKI und LA DUE (1956)).

cc) Verwendung in der klinischen Diagnostik

Humanmedizin: Die Transaminasen haben in der klinischen Diagnostik große Bedeutung gewonnen. Bei akuten Hepatitiden steigt ihre Menge im Serum bis zu dem 200-fachen ihres Normalwertes an, um dann langsam, bis zum Abklingen der Entzündung zum physiologischen Wert zurückzukehren. Ein geringer, aber dafür anhaltender Aktivitätsanstieg ist bei Leberzirrhosen zu beobachten. Als prognostisch günstig wird angesehen, wenn die GOT-Werte die GPT-Werte übersteigen.

Herzerkrankungen, wie Coronarinsuffizienzen und rheumatische Myokarditiden haben S-GOT Anstiege zur Folge. Die GPT muß bei diesen Erkrankungen nicht mit erhöht sein. Kreislaufschäden haben, hauptsächlich durch sekundäre Erkrankung der Leber, bis zu 100-fache Aktivitätsanstiege der GOT und GPT (BERGMAYER (1962)).

Veterinärmedizin: Die Transaminasebestimmung stellt eine wertvolle Bereicherung der klinischen Diagnostik von Lebererkrankungen

auch bei Haustieren dar. Es ist zwar nicht möglich, Schlüsse auf die Art und die Ausdehnung des Leidens zu ziehen, jedoch kann man durch die Aktivitätskurven sehen, ob ein Abklingen, Fortschreiten oder ein Rezidiv sich ankündigt (WÜRZNER (1964)). Normalwerte für Rinder und Kälber wurden wie folgt bestimmt:

Autor	Zahl der unters.Tiere	SGOT Mittelwert bzw. Schwan- kungsbereich	SGPT Mittelwert bzw. Schwan- kungsbereich	Untersu- chungs- methode bzw. Fermentein- heit
Blincoe u. Dye, 1958	69 (Kälber)	57 19-99		kolorime- trisch, Wroblewski- Cabaud
Kuttler u. Marble, 1958	45 (Kälber)	56		"
Cornelius u. M., 1959	8 (Kälber)	25	2,0	"
	27	55,8	16,2	"
Gürtler u. Richter, 1959	36 (Kälber)	73		Wroblewski- Cabaud, Mod. n. Dubach
	66	90 56-165	30 9-64	"
Gould u. Grimes, 1959	34	64,9 38-102		Reitmann- Frankel
Gould u. Grimes, 1960	28	62,1 38-102		"
Malherbe, 1960	44	26-60	10-36	"
Condy u. Carr, 1961	16	41,2	22,3	"
Huhn, 1961	14	1,23	0,54	Optischer Test n. War- burg Testkombina- tion "Boeh- ringer Bücher-Ein- heiten

Tab. 4 Serumtransaminasenaktivität bei gesunden Rindern
(nach GRÜNDER (1961))

Infolge methodischer Unterschiede sind die in der Tabelle 4 aufgeführten Werte nur teilweise vergleichbar. Die Zusammenstellung zeigt aber, daß auch bei gesunden Kälbern zum Teil erhebliche Streubreiten vorhanden sind.

STÖCKLE, LUSCHIN, ZACHERL und WIESER (1965) bestimmten den GOT-Gehalt von trächtigen Kühen und Kälbern, Sie fanden eine erhöhte Aktivität im Serum bei trächtigen Kühen, die zum Zeitpunkt der Geburt noch rapide anstieg. Zur Erklärung wird angenommen, daß es einmal zu Fettablagerung in der Leber kommt, andererseits soll durch die Geburt (Placentaablösung) Gewebe geschädigt werden. Die Kälber dieser Kühe hatten als GOT-Normalwerte am 1. Lebenstag 60,9 Enzymeinheiten (WROBLEWSKI-E.), die dann bis zum 22. Lebenstag bis zu 55,1 Einheiten abnahm. Bei Zwillingskälbern wurden die gleichen GOT-Werte mit denselben Aktivitätsabfällen festgestellt.

KUTTLER und MARBLE (1958) fanden Aktivitätsanstiege von GOT im Zusammenhang mit "White Muscle Disease" bei Kälbern. Herz- und Muskeltyp dieser Erkrankung weisen gleichermaßen hohe Transaminasewerte auf. Normale Kälber von Herden, aus denen die mit dieser Krankheit befallenen Tiere stammten, hatten ebenfalls noch Fermentanstiege im Serum. Zu denselben Resultaten kamen auch BLINCOE und DYE (1958), die ebenfalls GOT-Werte im Zusammenhang mit Weißfleischigkeit untersuchten.

GRÜNDLER (1961) prüfte an Rindern den diagnostischen Wert der Transaminase-Bestimmung bei Lebererkrankungen. Er bewies, daß bei akuten, im Gegensatz zu chronischen Lebererkrankungen, der meisten Tiere, ein deutlicher Anstieg des GOT-Spiegels vorhanden war.

Die Serum-GPT Aktivität war klinisch diagnostisch bei Lebererkrankungen nicht verwertbar. Diese Verhältnisse können nach JORNELIUS und M. (1959) durch den geringen Gehalt der Rinderleber an GPT erklärt werden; sie stimmen mit den Untersuchungen von MALHERBE (1960) überein. Bei der diagnostischen Auswertung der Serum-GOT müssen Skelett- und Herzmuskelschäden berücksichtigt werden, da Erkrankungen dieser Organe ebenfalls Fermenterhöhungen zur Folge haben (GOULD und GRIMES (1960)).

Die letztgenannten Autoren untersuchten auch Kühe mit Hypocalcämien. Die Serum-GOT war dabei erhöht, der Gipfel des Anstieges wurde meist am Tage nach Beginn des Festliegens erreicht. Das Ausmaß der Fermenterhöhung stand in Beziehung zu der Dauer des Festliegens und des Auftretens von Rezidiven.

HUHN (1961) untersuchte Rinder mit Reisetetanie, Gebärpapese, Ketose, primäre Indigestion und Enteritis. Zum klinischen Nachweis benutzte er unter anderem die Fermente GOT, GPT, LDH, AP und SP. Es zeigte sich, daß GOT und LDH bei allen Krankheiten vermehrt im Serum zu finden waren. Die SP, die seiner Meinung nach normalerweise im Serum überhaupt nicht nachweisbar ist, trat bei Gebärpapese, Ketose und der Futterintoxikation im Serum auf. Tiere mit Reisetetanie zeigten einen Abfall der Aktivität der AP.

MALHERBE (1960) zeigte, daß Rinder mit Babesiosis starke Erhöhungen der Serum-GOT haben. Einen Aktivitätsanstieg der Serum-GPT war nicht festzustellen.

MADIROVA, SINDELAROVA und NEUMANN (1961) untersuchten, ob ein hepatotoxischer Einfluß von Medikamenten, die bei der Therapie der Leberegelseuche verwendet werden, besteht. Diese Arzneimittel hatten alle als Träger der Wirksamkeit leberschädigenden Tetrachlorkohlenstoff. Es zeigte sich eine Aktivitätserhöhung von GPT, GOT und SDH. Einen direkten Zusammenhang zwischen der verabreichten Dosis und der Aktivitätserhöhung war nicht festzustellen.

b) Alkalische und saure Phosphatase

Diese Fermente katalysieren die hydrolytische Spaltung von Phosphosäureester. Nach ihrem unterschiedlichen pH-Wirkungssop-timum, das im alkalischen und sauren Bereich liegt, werden sie in alkalische und saure Phosphatasen unterteilt (RICHTERICH (1966)).

Die alkalische Phosphatase kommt besonders im Knochen (Osteoblasten) und in der Galle vor. Die saure Phosphatase findet sich in hoher Konzentration in der Prostata und den Erythrocyten.

Klinische Bedeutung: Zur Erkenntnis von Prostatakarzinomen wird die SP als Spezifikum angesehen. Die AP ist bei Lebererkrankungen (Cholestase) erhöht. Ständig hohe Enzymwerte sprechen für einen Verschlußikterus. Bei Skeletterkrankungen wie Rachitis, Osteodystrophie und Skelettmetastasen finden sich erhöhte Werte. Im jugendlichen Organismus mit gesteigerter Osteoblastentätigkeit liegen erheblich höhere Werte im Serum wie beim Erwachsenen vor (BERGMAYER (1962)).

c) Die Oxydoreduktasen MDH, GLDH, LDH und SDH

Diese 4 Enzyme haben gemeinsam, daß sie wasserstoffübertragende Reaktionen beschleunigen. Sie haben alle als Coenzyme Dinucleotide, die in der Lage sind, leicht Wasserstoff aufzunehmen oder abzugeben.

aa) Die Glutamatdehydrogenase katalysiert die Reaktion

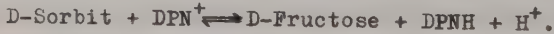
α -Ketoglutarat + NH_4^+ + $\text{DPNH} \rightleftharpoons \text{L-(+)-Glutamat} + \text{DPN}^+ + \text{H}_2\text{O}$,
wobei das Gleichgewicht ganz auf der Seite der Aminosäurenbildung liegt. Das Ferment kommt am reichsten in der Leber vor. In anderen Organen wie der Niere, dem Gehirn, der Magenschleimhaut und der Lunge ist es in geringeren Konzentrationen vorhanden.

Verwendung in der klinischen Diagnostik.

Humanmedizin: Bei Verschlußikterus wird ein im Vergleich zu den Transaminasen hoher Anstieg der Aktivitäten im Serum gefunden. Weiterhin dient die GLDH noch zur Diagnostik von Leukämien und Muskeldystrophien (BERGMAYER (1962)).

In der Veterinärmedizinischen Diagnostik wurde m.W. dieses Ferment noch nicht verwendet.

bb) Das zuerst von BLAKLEY (1951) beschriebene Ferment Sorbit-Dehydrogenase katalysiert die Gleichgewichtsreaktion:



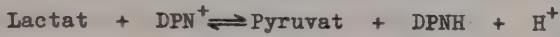
Seine Bedeutung im Kohlenhydratstoffwechsel besteht darin, daß Glucose durch Reduktion in Sorbit und dieses wiederum durch Oxydation in Fructose umgewandelt werden kann.

Das Enzym Sorbit-Dehydrogenase kommt fast ausschließlich in der Leber vor. In geringer Konzentration fand man es auch in Zellen der accessorischen Geschlechtsdrüsen und der Niere (WILLIAMS-ASHMAN (1954)).

In der klinischen Diagnostik wird die SDH fast ausschließlich zur Erkennung von Leberkrankheiten verwendet. Auch in der Veterinärmedizin dient dieses Ferment zur Diagnostik von Leberkrankheiten (WÜRZNER (1964)).

cc) Die Lactat-Dehydrogenase katalysiert die letzte Stufe der anaeroben Glykolyse. Ihre Aufgabe besteht in der Herstellung eines Gleichgewichts von Brenztraubensäure-Milchsäure, das den

jeweiligen physiologischen Bedingungen entspricht. Bei Sauerstoffmangel wird das Pyruvat zu Milchsäure reduziert:



Bei Vorhandensein von genügend Sauerstoff entsteht durch oxidative Decarboxylierung der Brenztraubensäure die aktivierte Essigsäure. Diese wird im Citronensäurecyclus zu CO_2 verbrannt oder in Fett umgewandelt (KARLSON (1962)).

Die Verteilung der LDH-Isoenzyme in den verschiedenen Organen steht im Zusammenhang mit deren Sauerstoffverbrauch (funktionsabhängige Differenzierung) (PFLEIDERER und WACHSMUTH (1961)). Gut mit Sauerstoff versorgte Zellen weisen überwiegend LDH-1-Isoenzyme auf, zum Beispiel das Herz und das Gehirn. Organe mit vorwiegend anaeroben Stoffwechsel, wie zum Beispiel die Skelettmuskulatur und die Leber, haben überwiegend LDH-5-Isoenzyme. Die Aminosäure-Sequenz der LDH-Isoenzyme unterscheidet sich bei den einzelnen Tierarten und innerhalb derselben Spezies (WACHSMUTH und PFLEIDERER (1964)). In der Morphogenese geht die Differenzierung der Organe mit einer Differenzierung der LDH-Isoenzyme einher (WACHSMUTH und PFLEIDERER (1961)).

Die biologische Synthese der 2 verschiedenen LDH-Untereinheiten, die das Isoenzym-Spektrum bei der elektrophoretischen Beweglichkeit ausmachen, wird wahrscheinlich von 2 verschiedenen Genen gesteuert (CAHN, KAPLAN, LEVINE und ZWILLING (1962)). Eventuell bedingt ein dritter Genort die Synthese der Testes-LDH (BLANCO und ZINHAM (1963)).

Die Lactat-Dehydrogenase ist vor allem im Herzmuskel und der Leber in hohen Konzentrationen anzutreffen (HUHN (1961)).

Verwendung in der klinischen Diagnostik

Humanmedizin: Bei Hepatitiden, Ascites und malignen Tumoren finden sich erhöhte Aktivitäten im Serum, die größer als die bei Leberzirrhosen sind. Beim Herzinfarkt sind die Anstiege der LDH denen der GOT weitgehend ähnlich. So steigt sie am 1. Tag des Infarktes an, erreicht vom 2. bis 4. Tag ihr Maximum und fällt am 6. bis 15. Tag zum Normalwert ab. Das Ausmaß des Aktivitätsanstieges ist dabei der Größe des Infarktes proportional (BERGMAYER (1962)).

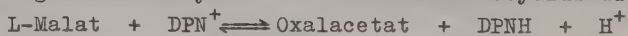
In der Veterinärmedizin werden nach HUHN (1961) als Normalwer-

te für das Rind $15,2^{+0,49}$ Bücher-Einheiten angegeben. HUHNS untersuchte die LDH-Aktivität beim Rind in Bezug auf Reisetetanie, Gebärpapese, Ketose und primäre Indigestion und stellte bei diesen Erkrankungen erhöhte Aktivitäten im Serum fest.

SOMMER und SCHNEIDER (1965) geben als Normalwerte bei verschiedenen Rassen (Hinterwälder, Höhenfleckvieh, Rotbuntes Niederungsrind) Werte zwischen 94 bis 242 Millieinheiten pro ml an. Diese Autoren beschreiben auch, daß nach Verabreichung von Neuroplegika wie Decentan und Combelen die Werte der von ihnen untersuchten Enzyme LDH, MDH, SDH, GOT, GPT, Aldolase, CPK in den ersten beiden Tagen absanken, um dann später ab dem 7. Tag schnell zuzunehmen.

CORNELIUS und M. (1959) zeigen, daß bei mit Tetrachlorkohlenstoff verursachten Leberschäden die LDH-Aktivitäten in der akuten Phase der Zellschädigung stark erhöht sind.

dd) Das zuerst von STRAUB (1942) beschriebene Ferment Malat-Dehydrogenase katalysiert im Citronensäurecyclus die Reaktion



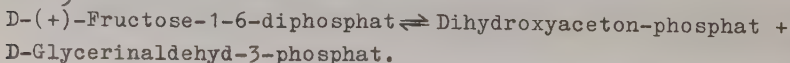
und wird in der Zelle hauptsächlich in den Mitochondrien und den Sarcosomen gefunden (KENNEDY, LEHNINGER (1949)). BÜCHER und KLINGENBERG (1958) zeigten, daß die MDH aus den Mitochondrien und dem Cytoplasma sich in pH-Optimum und Substratspezifität unterscheiden.

Die größte Aktivität der MDH ist in der Leber, es folgen dann Herz, Skelettmuskulatur und Gehirn.

In der Humanmedizin wird das Ferment bei Leber- und Herz-erkrankungen zur Diagnose mit verwendet (BERGMAYER (1962)). Spezielle Angaben in der veterinärmedizinischen Literatur über dieses Ferment wurden nicht gefunden.

d) Aldolase

Dieses glycolytische Enzym konnte erstmals von WARBURG und CHRISTIAN (1943) im Serum rein dargestellt werden. Es beschleunigt im Kohlenhydratstoffwechsel eine Reaktion, in der Fructose in C_3 -Fragmente gespalten wird.



Diese Forscher beschreiben auch, daß dieses Ferment hauptsächlich

im Skelettmuskel vorhanden ist. Andere aldolasehaltige Organe sind Leber- und Herzmuskel.

Verwendung in der klinischen Diagnostik.

Humanmedizin: Bei Herz- und Skelettmuskelerkrankungen ist der Wert des Ferments im Serum erhöht. Akute Hepatitiden führen zu stark erhöhten Fermentaktivitäten. Bei chronischen Hepatitiden, Lebertumoren, Verschlaußikterus und Leberschädigungen nach Herzinsuffizienzen wurden niedrigere Werte gefunden (BERGMAYER (1962)).

Veterinärmedizin: SOMMER und SCHNEIDER (1965) geben als Normalwerte für verschiedene Rinderrassen 8 bis 18 Millieinheiten/ml an. Über erhöhte Werte von Rindern mit Ketose, puerperaler Intoxikation mit fettiger Leberdegeneration wird berichtet. Höchstwerte wurden mit bei Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Rindern gefunden (WÜRZNER (1964)).

e) Creatin-Phosphokinase (CPK)

Die Aufgabe der CPK im Intermediärstoffwechsel besteht in der Bereitstellung energiereicher Verbindungen. Diese Energie kann leicht bei energieverbrauchenden Prozessen wie Muskelkontraktionen, Protein-, Fett- oder Harnstoffsynthesen wieder abgegeben werden. Das Ferment beschleunigt die Phosphorylierung von Creatin durch Adenosintriphosphat (ATP):



LOHMANN (1934) entdeckte dieses Ferment, indem er nachwies, daß Skelettmuskelextrakte die Phosphorylierung von Creatin durch ATP katalysieren. Die Kristallisation der Creatinphosphokinase gelang aus Kaninchenmuskel (KUBY, NODA und LARDY (1954)). Das Ferment kommt ausschließlich im Herzmuskel, Skelettmuskel und dem Gehirn in meßbaren Konzentrationen vor (RICHTERICH (1966)).

Verwendung in der klinischen Diagnostik.

Humanmedizin: Herzinfarkte bedingen einen steilen Anstieg der Enzymaktivität im Serum, der etwa nach 3 Tagen einen Gipfel erreicht und nach 4 bis 6 Tagen zum Normalwert zurückgeht. Auch arterielle Embolien haben den Zellaustritt des Ferments zur Folge. Bei klinisch erkennbaren Muskelaaffektionen deutet ein erhöhter Anstieg des Ferments auf eine primäre Myopathie; sekundäre Muskelerkrankungen haben gewöhnlich keine wesentlichen Veränderungen der Normalwerte zur Folge. Die Bestimmung der CPK im

Serum kann möglicherweise zur Erkennung von Überträgerinnen der **hereditären progressiven Muskeldystrophie** verwendet werden (BERGMAYER (1962)).

Veterinärmedizinische Untersuchungen über dieses Enzym sind bis jetzt fast ausschließlich bei Pferden mit Muskelaaffektionen, wie paralytische Myoglobulinämien und Myositiden angestellt worden. Die CPK-Werte waren dabei stark erhöht (WÜRZNER (1964)).

8. Serumenzym-Aktivitäten bei Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien

RHODES, URMAN, MARSH und GRACE (1962) untersuchten bei 4 Kälbern mit internem Hydrocephalus die Enzymwerte von Aldolase, LDH, GOT, GPT und MDH. Die untersuchten Kälber waren noch mit Muskeldystrophien, Hypo- und Dysplasien des Cerebellums mit Deformitäten des Mesencephalons, bilateralen kegelförmigen Ablösungen der Retina und Katarakten behaftet. Es konnte nachgewiesen werden, daß alle untersuchten Fermente bis zum 30-fachen des Normalen erhöht waren. Die Autoren glauben, daß diese Erscheinung auf die gleichzeitig beobachtete progressive Muskeldystrophie zurückgeführt werden muß.

C. Durchführung der Untersuchungen

I. Material und Methodik

1. Versuchstiere

Die von mir untersuchten 10 Serumfermente wurden nach ihrer Bedeutung in der klinischen Diagnostik in Human- und Veterinärmedizin ausgewählt. Zur Bestimmung ihrer Normalwerte im Kälberserum wurden 7 klinisch gesunde schwarzbunte Kälber vom ersten Lebenstag (Nüchternprobe) bis zu dem Alter von einem Monat im Abstand von jeweils drei Tagen untersucht. Bei einem der Kälber mußte die Untersuchung nach 21 Tagen abgebrochen werden.

	Rasse	Geschlecht	1. Versuchstag	Letzter Versuchstag
Kalb I	Sb	weibl.	23.12.1966	23.1.1967
Kalb II	Sb	männl.	3.1.1967	3.2.1967
Kalb III	Sb	männl.	16.1.1967	16.2.1967
Kalb IV	Sb	weibl.	16.1.1967	16.2.1967
Kalb V	Sb	weibl.	17.1.1967	17.2.1967
Kalb VI	Sb	männl.	2.2.1967	5.3.1967
Kalb VII	Sb	männl.	14.3.1967	14.4.1967

Gleichzeitig mit der Bestimmung der Normalwerte sollte herausgefunden werden, ob eine Abhängigkeit der Enzymaktivitäten vom Alter während der ersten 4 Lebenswochen besteht. Fünf der sieben Kälber wurden unter gleichen Umweltbedingungen gehalten. Die restlichen zwei Kälber sollten zeigen, ob eine Abweichung der Serum-Enzymwerte bei verschiedenen Haltungsbedingungen besteht. Ernährt wurden die Kälber in den ersten 10 Tagen (Kalb Nr. VII bis zum 14. Lebenstag) mit Muttermilch, danach wurden Milchaustauschpräparate verwendet.

Bei den Kälbern mit angeborenen Anomalien konnte jeweils aus technischen Gründen (moribunde Neugeborene) nur eine Blutprobe auf ihren Serumenzymgehalt untersucht werden. Diese Kälber waren zur Zeit der Blutentnahme auch unterschiedlich alt. Die Blutproben wurden nach der Entnahme jeweils eine viertel bis halbe Stunde im Kühlschrank aufbewahrt. Danach wurde der Blutkuchen gelöst und 30 Minuten bei 3000Umdr/min zentrifugiert. Bei dem so gewonnenen Serum wurde auf vollkommene Hämolysefreiheit geachtet.

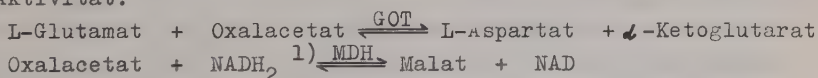
2. Untersuchungsmethoden

Das Serum wurde danach sofort auf seinen Fermentgehalt untersucht, da es bei längerer Lagerung, auch bei Kühlschranktemperatur, bei einigen Fermenten zum Teil zu beträchtlichen Aktivitätsabfällen kommen kann (FORSTER, SCHMIDT und LAUDAHN (19667)).

Zur Bestimmung der Serumenzyme wurde der optische Test ausgewählt, da er für die routinemäßige Untersuchung der geeignetste ist. Die zu diesem Test erforderlichen Reagentien bezog ich mit den dazugehörigen Anleitungen von der Firma Boehringer, Mannheim. Als Test-Gerät diente das Photometer PMQ II mit thermostantem Küvettenhalter der Firma Zeiss, Oberkochen.

a) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Folgende Reaktionen dienen als Grundlage der Messung der GOT-Aktivität:



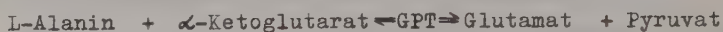
Dazu werden 3,0 ml Lösung 1 (0,1 M Phosphatpuffer, pH = 7,4; 0,04 M L-Aspartat) mit 0,05 ml Lösung 2 (0,012 NADH₂) und 0,05 ml Lösung 3 (0,25 mg MDH/ml; 0,25 mg LDH/ml) in einem

1) NADH₂ = red. Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (früher DPNH₂)

Reagenzglas angesetzt. Nach einer Inkubationsdauer von 5 Minuten bei $+25^{\circ}\text{C}$ wird 0,1 ml Lösung 4 (0,25 M Ketoglutarat) dazugegeben und die zeitliche Abnahme von NADH_2 3 Minuten lang gemessen. Der Mittelwert davon wird zur Berechnung der Enzymaktivität benutzt.

b) Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die GPT-Aktivität wird durch die Reaktionen



im zusammengesetzten optischen Test gemessen. Es werden 3,0 ml Lösung 1 (0,1 M Phosphatpuffer, $\text{pH} = 7,4$; 0,08 M DL-Alanin), 0,05 ml Lösung 2 (0,012 M NADH_2), 0,05 ml Lösung 3 (0,25 mg LDH/ml) und 0,5 ml Serum 5 Minuten lang inkubiert. Dazu kommen 0,1 ml Lösung 4 (0,25 M - Ketoglutarat). Die NADH_2 -Extinktionsabnahme wird in den ersten 3 Minuten des Reaktionsablaufes gemessen. Der Mittelwert der Meßgrößen wird zur Errechnung der Enzymaktivität verwendet.

c) und d) Alkalische und saure Phosphatase

Die Aktivität der Phosphatasen wird mit dem Farbtest bestimmt. Als Substrat wird für beide p-Nitrophenylphosphat verwendet. Nach Abspaltung des Phosphats kann p-Nitrophenol in alkalischer Lösung auf Grund der Gelbfärbung calorimetriert werden.

Dazu werden im Testansatz für die alkalische Phosphatase bei Probe und Leerwert je 1 ml Lösung 2 (0,05 M Glycin-Puffer, $\text{pH} = 10,5$; 0,0005 M MgCl_2 ; 0,0055 M Natrium-p-nitrophenylphosphat pipettiert.

Die saure Phosphatase bekommt in Probe und Leerwert je 1 ml Lösung 2 (0,05 M Citratpuffer, $\text{pH} = 4,8$; 0,0055 M Natrium-p-nitrophenylphosphat).

Zu der Probe werden 0,2 ml Serum pipettiert. Proben und Leerwerte werden 30 Minuten bei $+37^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Danach werden zu den Leerwerten die gleichen Serummengen wie zu den Proben hinzugegeben. Nach Alkylierung mit 10,0 ml 0,02 n-NaOH kann die Probe gegen den Leerwert gemessen werden. Der gefundene Wert geht in die Berechnung ein.

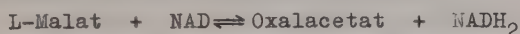
e) Lactat-Dehydrogenase

Zur Aktivitätsbestimmung der Lactat-Dehydrogenase werden

3,0 ml Lösung 1 (0,050 M Phosphatpuffer, pH = 7,5; 0,0003 M Pyruvat) mit 0,05 ml Lösung 2 (0,009 M NADH₂) und 0,1 ml Serum in eine Küvette pipettiert. Darauf wird sofort die Extinktionsabnahme in der Minute 3 Minuten lang gemessen und der Mittelwert daraus gebildet. Dieser Mittelwert geht in die Berechnung ein. Bei dieser Messung wurde von mir ein mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünntes Serum verwendet.

f) Malat-Dehydrogenase

Bei der Messung der Enzymaktivität wird die Reduktion von Oxalacetat zu Malat zeitlich verfolgt:



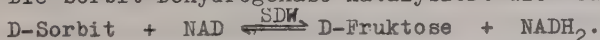
Da Oxalacetat in wässriger Lösung instabil ist, muß es kurz vor der Reaktion hergestellt werden. Dies geschieht durch Einwirkung von GOT auf α -Ketoglutaratsäure und Aspartat.

Die Aktivitätsmessung des Enzyms wird folgendermaßen durchgeführt: 3,0 ml Lösung 1 (0,1 M Phosphatpuffer, pH = 7,4; 0,042 M Aspartat) werden zu 0,05 ml Lösung 2 (0,065 M α -Ketoglutarat), 0,05 ml Lösung 3 (0,012 M NADH₂) und 0,05 ml Lösung 4 (0,1 mg GOT/ml) pipettiert. Dieses Gemisch wird 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad aufbewahrt. Durch Zugabe von 0,1 ml Serum wird die Reaktion gestartet und die Extinktionsabnahme von DPNH in der Minute auf der Photometerskala abgelesen. Mit dem Mittelwert der ersten 3 Messungen wird die Aktivität berechnet.

In meinen Versuchen wurde mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünntes Serum verwendet.

g) Sorbit-Dehydrogenase

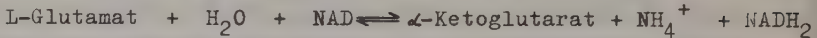
Die Sorbit-Dehydrogenase katalysiert die Reaktion



Zur Messung werden Lösung 1 (0,2 M Triäthanolaminpuffer, pH=7,4), 1 ml Serum und 0,05 ml Lösung 2 (0,015 M NADH₂) in ein Reagenzglas pipettiert. Das Gemisch wird 45 Minuten bei +25°C im Wasserbad gelassen. Danach pipettiert man 0,2 ml Lösung 3 (1,65 M Fruktose) dazu und mißt die Extinktion E₁. Nach 10 Minuten erfolgt bei derselben Temperatur die Messung E₂. Die Differenz aus E₁ und E₂ wird zur Berechnung der Enzymaktivität herangezogen.

h) Glutamat-Dehydrogenase

Die Glutamat-Dehydrogenase wird durch die Reaktion

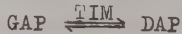
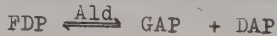


bestimmt. Es werden 2,0 ml Lösung 1 (0,05 M Triäthanolamin-puffer, pH = 8,0; 0,004 M Äthylendiamin-tetraacetat), 1 ml Serum, 0,10 ml Lösung 2 (3,2 M Ammoniumacetat), 0,05 ml Lösung 3 (0,012 M NADH₂) zusammengegeben und 20 Minuten in ein Wasserbad von +25°C gestellt. Nach der ersten Messung E₁ erfolgt nach 10 Minuten die zweite Ablesung E₂. In den meisten Fällen ist E₁ gleich E₂. Nach Zugabe von 0,05 ml Lösung 4 (0,41 M Ketoglutarat) erfolgt die 3. Messung E₃. Genau abermals nach 10 Minuten wird die 4. Ablesung E₄ vorgenommen.

Zur Berechnung des Enzymwertes wird die Extinktionsdifferenz E₁-E₂ von der Extinktionsdifferenz E₃-E₄ abgezogen.

i) Aldolase

Das aus Fructose-1-6-diphosphat entstehende D-Glycerinaldehyd-3-phosphat wird durch Triosephosphat-Isomerase (TIM) fast vollständig in Dihydroxyacetonphosphat überführt. Dieses wird durch Glycero-phosphat-Dehydrogenase zu Glycerophosphat umgewandelt, wobei NADH verbraucht wird:

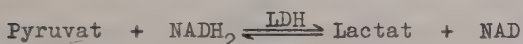
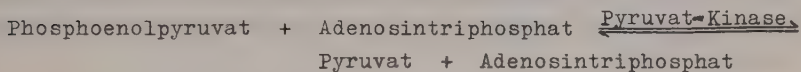
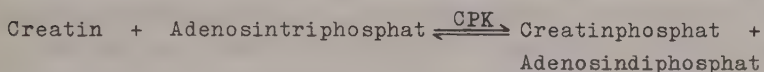


Eine Probe und ein Leerwert werden angesetzt. Die Probe setzt sich aus 2,50 ml Lösung 1 (0,056 M Collidinpuffer, pH = 7,4; 0,0003 Monojodacetat; 0,003 M FDP), 0,05 ml Lösung 2 (0,02 M NADH₂), 0,01 ml Lösung 3 (2 mg GDH/TIM/ml) und 0,2 ml Serum zusammen. Der Leerwert besteht aus 2,50 ml physiologischer Kochsalzlösung und 0,2 ml Serum. Leerwert und Probe werden in ein Wasserbad von +37°C gestellt und nach 5 Minuten gegeneinander gemessen (E₁). Nach 20 Minuten Aufbewahrung beiderseits der Temperatur wird zur Ermittlung von E₂ nochmals Probe gegen Leerwert gemessen. Die Differenz von E₁ und E₂ ist Meßgröße.

In den Versuchen wurde das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt.

k) Creatin-Phosphokinase

Die Aktivität der Creatin-Phosphokinase wird durch folgende Reaktionen im zusammengesetzten optischen Test gemessen:



Es werden eine Probe und ein Leerwert angesetzt. Probe und Leerwert bekommen je 1 ml Serum, je 0,7 ml Lösung 1 (2 M Glycin-Puffer, pH = 9; 0,001 M NADH₂; 0,006 M ATP; 0,002 M (Phosphoenolpyruvat), je 0,05 ml Lösung 2 (2 mg LDH/ml; 2 mg PK/ml; 0,5 M MgCl₂) und werden 10 Minuten in ein Wasserbad von +25°C gestellt. Danach wird zu der Probe 1,75 ml Lösung 3 (0,1 M Glycinpuffer, pH = 9,0; 0,063 M Creatin) und zu dem Leerwert 1,75 ml Lösung 4 (0,1 M Glycinpuffer, pH = 9,0) hinzugegeben. Der Leerwert wird im Strahlengang des Photometers auf Extinktion 0,3 eingestellt und die Probe gegen den Leerwert gemessen (E₁). Nach 10 Minuten wird dieselbe Messung E₂ wiederholt. Die Differenz aus E₁ und E₂ geht in die Berechnung ein.

D. Ergebnisse

1. Die gefundenen Enzymwerte gesunder Kälber werden dem jeweiligen Lebenstag zugeordnet. Aus ihnen wird der Mittelwert und der Normalbereich der Gesamtwerte und der zu den betreffenden Lebenstagen gehörenden Einzelwerte errechnet. Bei der Berechnung selbst werden die höchsten und niedrigsten Werte nicht berücksichtigt, da ihr Betrag die zu errechnenden Normalwerte sonst verzerren würde.

	1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.
	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag	Tag
Kalb I	20,2	22,5	18,6	20,2	22,0	11,2	17,1	20,5			
Kalb II	22,5	20,2	13,5	18,0	14,8	13,5	X	10,3	14,2	13,7	14,2
Kalb III	18	13,5	17,1	14,8	10,3	14,2	11,7	10,5	14,2	13,5	18
Kalb IV	22,5	24,5	11,2	17,5	20,9	28,2	24,5	9,7	20,2	18,0	18,7
Kalb V	22,7	17,1	17,1	14,8	15,7	14,6	14,2	13,4	10,1	15,0	20,2
Kalb VI	9,0	17,1	17,1	11,2	15,0	16,4	20,2	13,5	16,4	13,0	11,2
Kalb VII	23,1	15,7	13,5	18,7	14,2	13,8	13,9	15,7	15,7	13,5	13,2
Summe	129	130,6	108,1	115,2	112,9	111,9	101,6	93,6	90,8	86,7	95,5
Mittelwert	21,5	18,7	15,4	16,5	16,1	16	16,92	13,4	15,1	14,5	15,9
Normalbereich	18-23,1	13,5-24,5	11,2-18,6	11,2-20,2	10,3-22	11,2-28,2	11,7-24,5	9,7-20,5	10,1-20,2	13-18	11,2-20,2

Tab. 5 Serum-GOT Aktivitäten im ersten Lebensmonat

4 Wochen-Mittelwert 16,1 mU/ml Serum

Normalbereich 9,7 - 28,2 mU/ml Serum

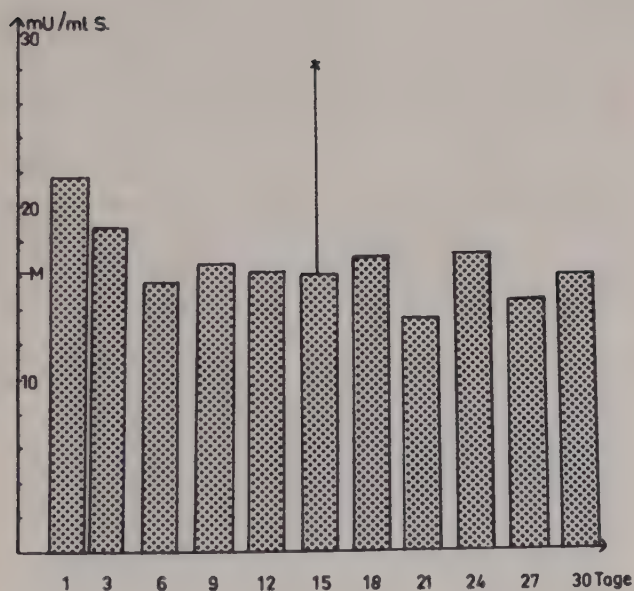


Abb. 2 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten Glutamat-Oxalacetat-Transaminase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	4,04	4,5	4,5	5,1	4,5	4,5	2,95	3,58			
Kalb II	3,58	2,2	5,22	3,58	2,2	3,58	X	2,2	2,2	1,6	2,89
Kalb III	3,58	2,2	3,58	2,2	3,58	2,2	2,2	1,54	1,54	2,2	2,89
Kalb IV	3,58	6,7	3,35	2,2	2,89	2,2	2,89	1,54	3,81	2,89	4,5
Kalb V	<u>6,7</u>	4,5	5,6	4,5	2,2	2,2	2,89	5,82	2,2	3,81	1,75
Kalb VI	4,5	4,5	4,5	1,54	2,2	2,89	1,32	1,34	2,89	2,2	2,89
Kalb VII	2,89	2,2	3,9	3,81	2,2	4,5	2,2	2,2	2,89	2,2	2,2
Summe	22,17	20,1	30,65	22,93	19,77	22,07	14,45	18,22	15,53	14,9	17,12
Mittelwert	3,70	3,35	4,38	3,28	2,82	3,15	2,41	2,6	2,59	2,48	2,85
Normalbereich	2,89 - 4,5	2,2 - 4,5	3,35 - 5,6	1,54 - 5,1	2,2 - 4,5	2,2 - 4,5	1,32 - 2,95	1,34 - 5,82	1,54 - 3,81	1,6 - 3,81	1,75 - 4,5

Tab. 6 Serum-GPT Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen-Mittelwert = 3,17 mU/ml Serum
 Normalbereich = 1,32 - 6,7 mU/ml Serum

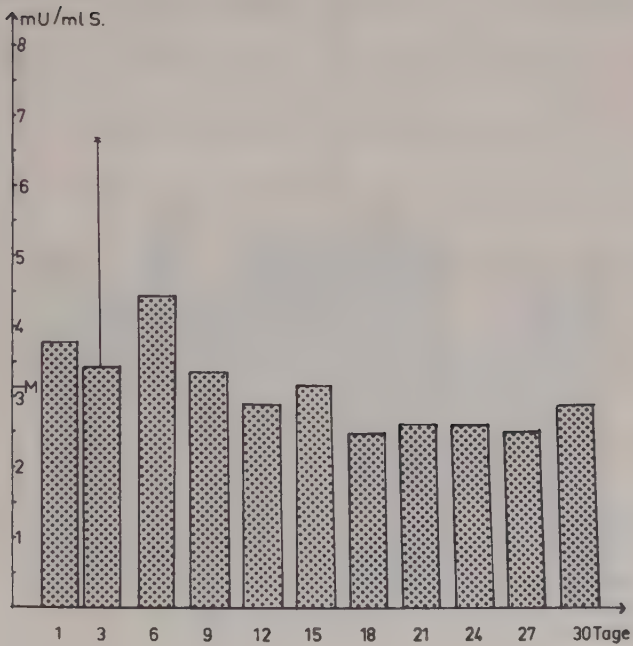


Abb. 3 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von Glutamat-Pyruvat-Transaminase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	6,4	7,55	6,35	6,35	3,93	6,52	7,75	5,34			
Kalb II	4,32	2,84	3,99	4,87	4,85	3,55	X	3,5	3,28	4,14	4,62
Kalb III	3,48	4,68	4,80	4,40	5,30	4,42	4,99	5,04	1,53	5,16	6,60
Kalb IV	4,56	<u>9,0</u>	3,9	4,6	4,2	<u>9,52</u>	5,68	5,08	3,18	4,32	4,75
Kalb V	5,3	6,77	5,3	4,8	4,7	5,07	5,68	7,9	1,75	3,84	4,98
Kalb VI	3,6	7,7	6,05	1,27	8,4	8,67	6,0	5,06	6,6	5,34	4,8
Kalb VII	4,44	1,86	6,5	2,0	3,64	5,28	1,8	1,8	1,8	2,1	2,2
Summe	32,10	24,47	36,89	29,29	35,02	33,51	31,9	33,72	18,14	24,90	27,95
Mittelwert	4,59	4,08	5,27	4,18	5	4,79	5,32	4,82	3,02	4,15	4,66
Normalbereich	3,6 - 6,4	1,86 - 7,55	3,9 - 6,35	1,27 - 6,35	3,64 - 8,4	3,55 - 8,67	1,8 - 7,75	1,8 - 7,9	1,53 - 6,6	2,1 - 5,34	2,2 - 6,6

Tab. 7 Serum-AP Aktivitäten im ersten Lebensmonat

4 Wochen-Mittelwert: 4,62 mU/ml Serum

Normalbereich: 1,53 - 8,67 mU/ml Serum

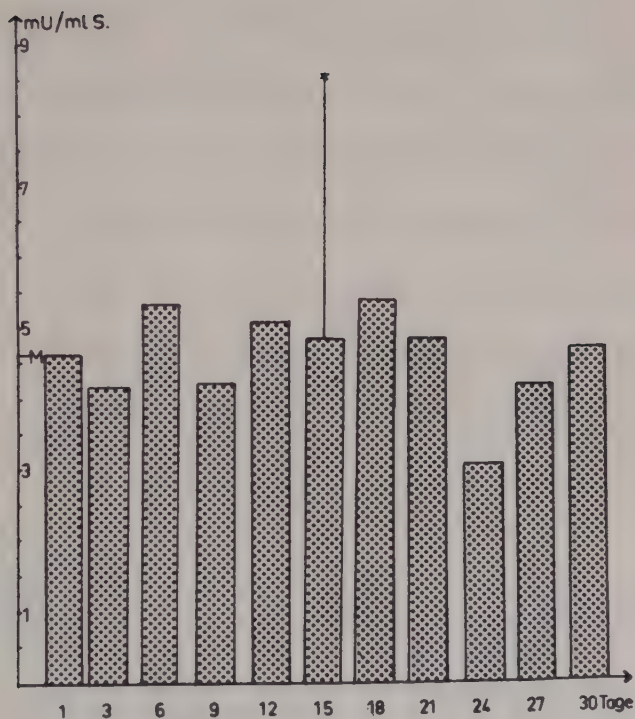


Abb. 4 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von alkalischer Phosphatase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern)

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	0,52	0,36	0,81	0,14	0,14	0,26	0,34	0,29			
Kalb II	0,12	0,05	0,03	0,1	<u>1,71</u>	0,14	X	0,04	0,02	0,1	0,28
Kalb III	<u>0,34</u>	0,31	0,1	0,06	0,23	0,1	0,17	0,33	0,1	0,03	0,06
Kalb IV	0,36	0,54	0,1	0,23	0,26	0,23	0,3	0,44	0,11	0,38	0,12
Kalb V	0,64	0,21	0,13	0,2	0,25	0,46	0,30	0,23	0,1	0,15	0,24
Kalb VI	0,25	0,37	0,59	0,06	0,43	0,23	0,2	0,06	0,24	0,42	0,27
Kalb VII	0,14	0,24	0,37	0,38	0,38	0,46	0,42	0,48	0,41	0,13	0,29
Sum- me	2,03	2,08	2,13	1,17	1,69	1,88	1,73	1,87	0,98	1,21	1,26
Mit- tel- werte	0,34	0,3	0,3	0,17	0,28	0,27	0,29	0,27	0,16	0,2	0,21
Normal- bereich	0,12 -0,64	0,05 -0,54	0,03 -0,81	0,06 -0,38	0,14 -0,43	0,1- 0,46	0,17 -0,42	0,04 -0,48	0,02 -0,41	0,03 -0,42	0,06- 0,29

Tab. 8 Serum-SP Aktivitäten im ersten Lebensmonat

4 Wochen-Mittelwert: 0,25 mU/ml Serum

Normalbereich: 0,02 - 0,81 mU/ml Serum

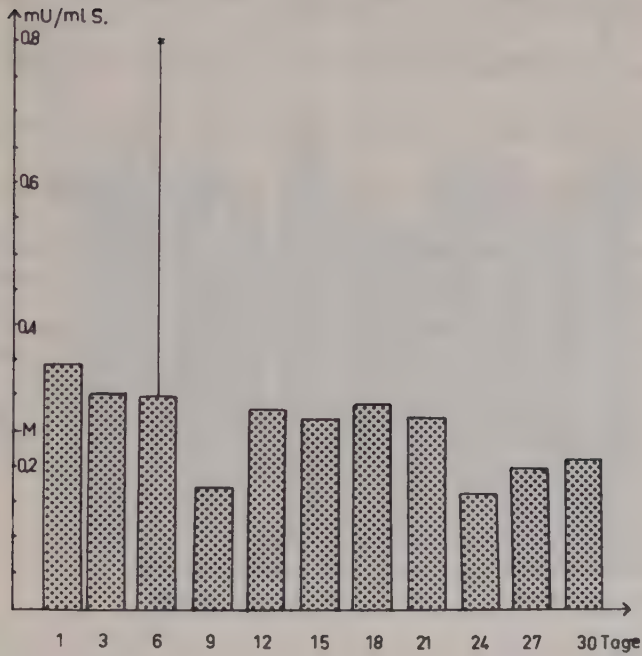


Abb. 5 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von saurer Phosphatase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.
	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.
Kalb I	367	431	431	570	720	760	<u>1241</u>	740			
Kalb II	573	630	700	573	669	602	X	440	573	625	526
Kalb III	602	410	612	478	526	631	478	573	602	602	573
Kalb IV	613	698	565	602	621	631	412	545	536	450	<u>940</u>
Kalb V	440	631	631	507	671	726	412	530	478	453	793
Kalb VI	286	764	507	412	450	478	507	573	561	450	478
Kalb VII	736	315	286	316	384	415	450	454	454	478	430
Summe	3617	3879	3732	3458	4041	3559	2259	3855	3204	3058	2800
Mittelwerte	517	554	533	494	577	508	452	551	534	509	560
Normalwerte	286	315	286	316	384	415	412	440	478	450	430
	-736	-764	-700	-602	-720	-760	-507	-740	-602	-625	-793

Tab. 9 Serum-LDH Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen-Mittelwert: 528 mU/ml Serum
 Normalbereich: 286 - 793 mU/ml Serum

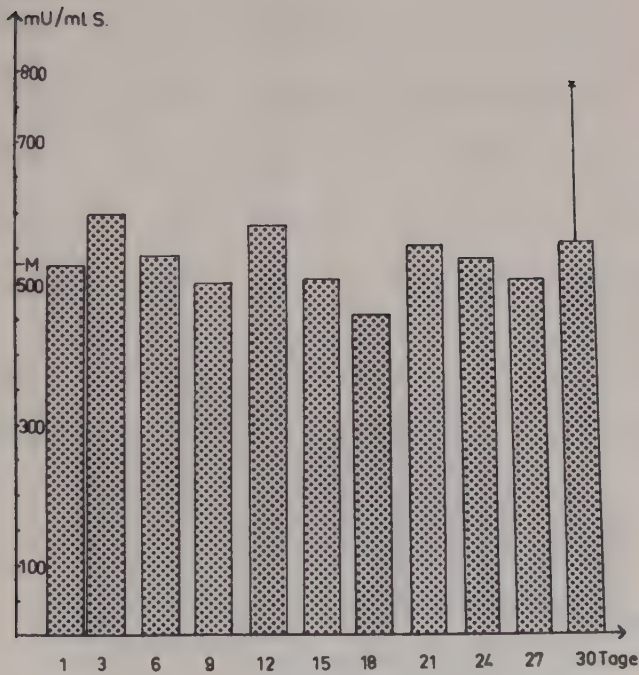


Abb. 6 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von Lactat-Dehydrogenase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern)

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	157	266	185	171	64	138	148	591			
Kalb II	191	285	148	111	127	296	X	<u>945</u>	696	<u>945</u>	197
Kalb III	296	552	648	690	847	<u>1044</u>	341	128	128	157	69
Kalb IV	125	296	551	<u>945</u>	886	<u>1507</u>	591	167	128	98	266
Kalb V	384	138	492	784	846	520	492	520	167	98	197
Kalb VI	<u>1526</u>	341	148	346	197	128	83	325	69	98	118
Kalb VII	<u>2560</u>	98	788	98	128	197	98	98	98	128	128
Summe	1053	1976	2960	2200	3095	1279	1753	1829	1286	579	975
Mittel- werte	211	282	423	367	442	256	292	305	214	116	163
Nor- mal- werte	125- 384	98- 552	148- 788	98- 784	64- 886	128- 520	83- 591	98- 591	69- 696	98- 157	69- 197

Tab. 10 Serum-MDH Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen-Mittelwert: 228 mU/ ml Serum
 Normalbereich: 64 - 886 mU/ ml Serum

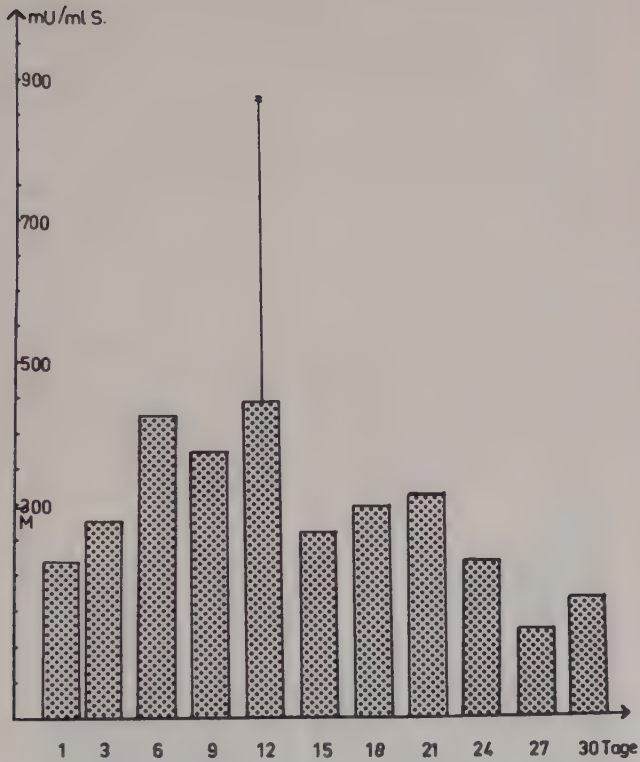


Abb. 7 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von Malat-Dehydrogenase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	2,5	<u>0,2</u>	0,8	5,4	4,4	2,7	2,4	4,4			
Kalb II	2,6	1,3	1,7	2,2	1,8	1,4	X	2,4	3,1	4,0	4,4
Kalb III	2,8	2,8	3,4	3,1	1,6	1,9	2,7	2,7	3,2	3,8	5,5
Kalb IV	3,6	4,5	2,4	3,6	4,9	1,9	<u>7,9</u>	2,0	4,9	3,4	2,8
Kalb V	1,5	1,9	3,2	2,4	1,5	2,6	2,1	4,8	3,9	4,6	5,8
Kalb VI	2,0	2,9	3,2	2,0	1,8	3,1	3,7	3,6	3,5	2,9	2,8
Kalb VII	2,9	2,7	1,9	4,0	3,2	3,4	2,5	2,5	1,7	2,2	2,4
Summe	17,9	16,1	16,6	22,7	19,2	17	13,5	22,4	20,3	20,9	23,7
Mit- tel- werte	2,6	2,7	2,4	3,2	2,7	2,4	2,7	3,2	3,4	3,5	4,0
Nor- mal- werte	1,5- 3,6	1,3- 4,5	0,8- 3,4	2,0- 5,4	1,6- 4,8	1,4- 3,4	2,1- 3,7	2,0- 4,8	1,7- 4,9	2,2- 4,6	2,4 - 5,8

Tab. 11 Serum-SDH Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen Mittelwert: 2,9 mU/ml Serum
 Normalbereich: 0,8 - 5,8 mU/ml Serum

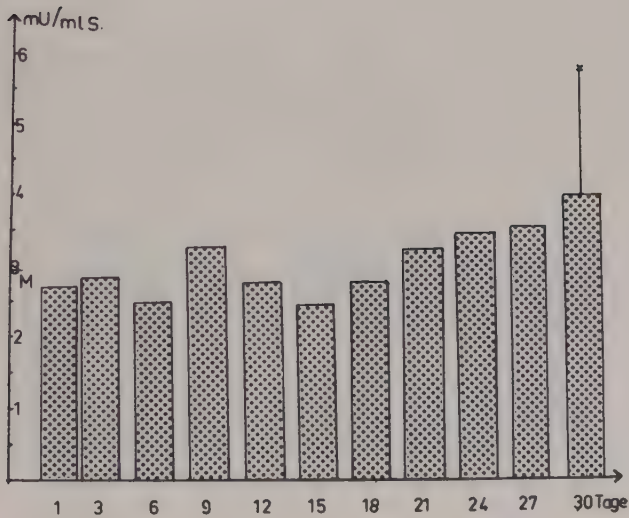


Abb. 8 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von Sorbit-Dehydrogenase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.
	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.
Kalb I	1,5	<u>6,8</u>	5,9	4,1	4,45	<u>0,5</u>	1,8	6,1			
Kalb II	1,8	1,0	1,8	4,4	1,2	1,1	X	2,4	3,6	3,1	5,6
Kalb III	1,5	2,1	3,8	1,7	1,2	2,1	1,1	1,0	5,2	2,9	2,7
Kalb IV	1,8	4,5	1,2	2,4	3,2	5,6	5,0	1,0	3,1	2,7	1,5
Kalb V	1,90	1,5	0,9	1,8	1,2	<u>0,7</u>	1,5	5,2	3,9	4,6	4,1
Kalb VI	1,40	3,2	2,1	1,8	4,1	2,4	4,6	2,9	3,8	3,7	3,5
Kalb VII	<u>0,3</u>	1,3	3,9	<u>6,3</u>	2,2	2,9	4,4	4,4	1,8	1,2	1,4
Summe	9,9	20,4	19,6	16,2	17,6	14,1	18,4	23	21,4	18,2	18,8
Mittelwerte	1,7	3,4	2,8	2,7	2,5	2,8	3,1	3,3	3,1	3,0	3,1
Normalwerte	1,4-1,9	1,0-4,5	0,9-5,9	1,8-4,4	1,2-4,5	1,1-5,6	1,1-5,0	1,0-6,1	1,8-5,2	1,2-4,6	1,4-5,6

Tab. 12 Serum GLDH Aktivität im ersten Lebensmonat
 4 Wochen Mittelwert: 2,94 mU/ml Serum
 Normalbereich: 0,9 - 6,1 mU/ml Serum

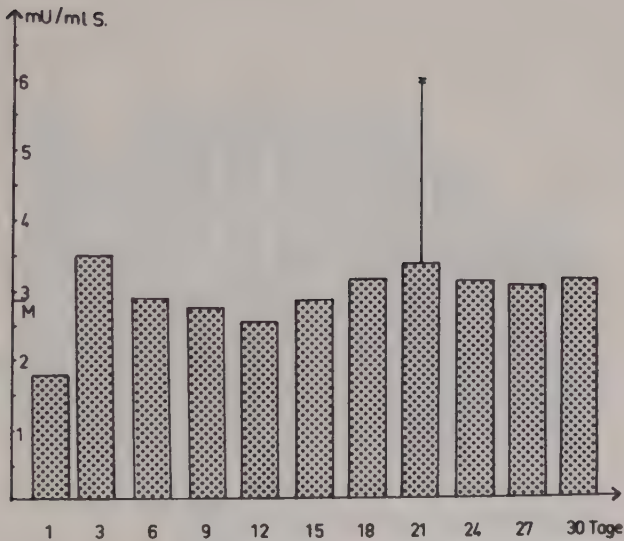


Abb. 9 Graphische Darstellung der gerundeten Serumaktivitäten von Glutamat-Dehydrogenase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.
L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.	L.T.

Kalb I	19,2	28,0	18,6	20,0	23,0	18,0	9,0	21,5			
Kalb II	22	20	17	15	28	28,4	X	15,8	10,6	9,4	17,4
Kalb III	22,5	12	17,3	17	25,5	17	11,4	17,5	15,5	12	13
Kalb IV	17	14,2	15,7	15	17,4	17	28	21,5	19	17	17,5
Kalb V	16	10	9,8	18,2	16,2	13	28	18,0	17,3	11	20,5
Kalb VI	25	11,4	25	26	13,5	18,4	14,6	15,4	17	17	16,6
Kalb VII	19,4	13	17,8	19,8	17	17	17	17	19	16,2	15,7
Summe	141,1	108,6	121,2	131	140,6	110,4	108	126,7	98,4	82,6	100,7

Mittelwerte	20,2	15,5	17,3	18,7	20,1	18,4	18	18,1	16,4	13,8	14,4
Normalwerte	16-22,5	10-20	9,8-25	15-26	13,5-25,5	13-18	9-17	15,4-21,5	10,6-19	9,4-17	13-17,5

Tab. 13 Serum-Aldolase Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen-Mittelwert: 17,6 mU/ml Serum
 Normalbereich: 9,0 - 28,4 mU/ml Serum

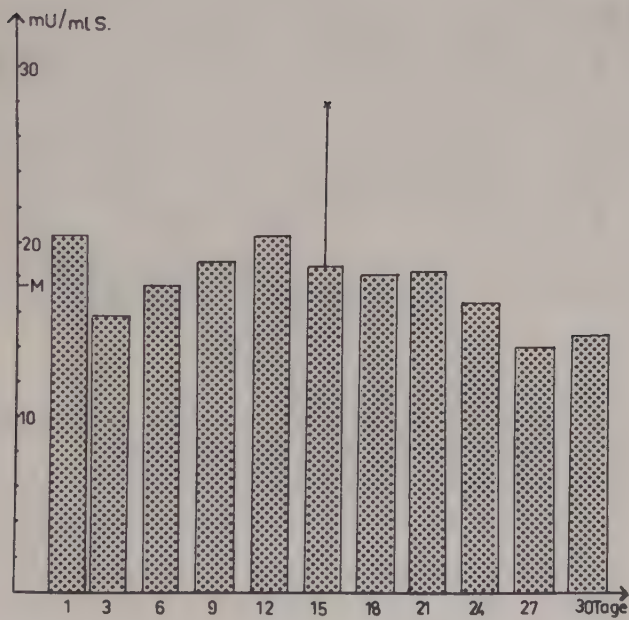


Abb. 10 Graphische Darstellung der gefundenen Serumaktivitäten von Aldolase im ersten Lebensmonat (Mittelwerte von jeweils 7 Kälbern).

	1. L.T.	3. L.T.	6. L.T.	9. L.T.	12. L.T.	15. L.T.	18. L.T.	21. L.T.	24. L.T.	27. L.T.	30. L.T.
Kalb I	0	0,1	0,1	0,4	0,3	0	0	0			
Kalb II	0	0	0	0	0,1	0	X	0	0	0	0
Kalb III	0	0	0	0	0	0	Q	0	0	0	0
Kalb IV	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2
Kalb V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kalb VI	0	0,5	0	0	0	0,1	0,3	0	0	0	0,2
Kalb VII	0,2	0	0	0,2	0,3	0	0	0	0	0	0

Tab. 14 Serum-CPK Aktivitäten im ersten Lebensmonat
 4 Wochen-Mittelwert: 0 mU/ml Serum
 Normalbereich: 0 - 0,5 mU/ml Serum

2. Serum-Enzymspiegel von Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien

Es werden die an verschiedenen Lebenstagen gefundenen Serum-Enzymwerten bei mißgebildeten Kälbern verschiedener Rassen (Fl., Rb., Sb.,) mit den bei gesunden schwarzbunten Kälbern ermittelten Normalwerten verglichen.

a) Fall Nr. 1046/66 (Zwillinge)

Diagnose: Freemartinismus

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	28,2	5,82	3,25	0,30	1338	1080	4,2	2,3	21	0
	35,0	21,58	2,04	0,27	980	650	5,9	3,8	19	0
Mittel- wert	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5- 24,5	2,2- 4,5	1,86- 7,55	0,05- 0,54	315- 764	98- 552	1,3- 4,5	0,5- 4,5	10- 20	0 -0,5

b) Fall Nr. 1060/66

Diagnosen: Kleinhirnhypoplasie

Brachyurie

Harnröhrenstenose

Partielle Hornhauttrübung links

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	20,2	4,5	13,0	0,06	782	423	5,8	1,8	19,8	0
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5- 24,5	2,2- 4,5	1,86- 7,55	0,05- 0,54	315- 764	98- 552	1,3- 4,5	0,5- 4,5	10- 20	0 -0,5

c) Fall Nr. 1097/66

Diagnosen: Arthrogyrose

Brachygnathia inferior

Freemartinismus

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	23,1	6,0	3,26	0,48	728	249	3,1	1,0	10,7	0,5
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5- 24,5	2,2- 4,5	1,86- 7,55	0,05- 0,54	315- 764	98- 552	1,3- 4,5	0,5- 4,5	10- 20	0,0,5

d) Fall Nr. 1184/67

Diagnosen: Hernia umbilicalis,
Evertedratio jejuni

Serum-Enzymbestimmung am 11. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	42,5	8,0	1,10	0,21	508	464	2,1	1,4	32	0
Mittel- werte	16,1	2,82	5	0,28	577	442	2,7	2,5	20,1	0
Normal- bereich	10,3- 22	2,2- 4,5	3,64- 8,4	0,14- 0,43	384- 720	64- 866	1,6- 4,9	1,2- 4,5	13,5- 25,5	0-0,5

e) Fall Nr. 1107/67

Diagnose: Diprosopus incompletus

Serum-Enzymbestimmung am 2. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	15,7	5,16	4,56	0,24	345	551	2,1	1,4	14,2	0
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5- 24,5	2,2- 4,5	1,86- 7,55	0,05- 0,54	315- 764	98- 552	1,3- 4,5	0,5- 4,5	10- 20	0-0,5

f) Fall Nr. 1177/67

Diagnosen: Palatoschisis

Arthrogrypose II

Ectopia vasorum

Serum-Enzymbestimmung am 1. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	20,9	6,7	6,15	0,39	739	492	3,6	0,5	20	0,44
Mittel- werte	21,5	3,7	4,59	0,34	517	211	2,6	1,7	20,2	0
Normal- bereich	18- 23,1	2,89- 4,5	3,6- 6,4	0,12- 0,64	286- 736	125- 384	1,5- 3,6	1,4- 1,9	16- 22,5	0-0,5

g) Fall Nr. 1151/67

Diagnosen: Ramskopf ("Tête de mouton")

Arthrogrypose hi.bdsts.

Arthritis purulenta

Serum-Enzymbestimmung am 7. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	22	4,5	4,8	0,40	640	69	3,6	1,1	2,1	0,1
Mittel- werte	15,4	4,38	5,27	0,3	533	423	2,4	2,8	17,3	0
Normal- bereich	11,2-18,6	3,35-5,6	3,9-6,35	0,03-0,81	286-1400	69-788	0,8-3,4	0,9-5,9	9,8-2,5	0-0,5

h) Fall Nr. 1122/67

Diagnose: Hydrocephalus internus

Serum-Enzymbestimmung am 8. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	20,89	2,89	6,05	0,3	507	198	4,2	2,2	15	0,6
Mittel- werte	16,5	3,28	4,18	0,17	494	367	3,2	2,7	18,7	0
Normal- bereich	11,2-20,2	1,54-2,1	1,27-6,35	0,06-0,38	316-602	98-784	2,0-5,4	1,8-4,4	15-26	0-0,5

i) Fall Nr. 1110/67

Diagnose: Atresia ani

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	25,25	10,32	4,56	0,80	792,8	355	1,7	0,7	28,4	0
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5-24,5	2,2-4,5	1,86-7,55	0,03-0,81	315-764	98-552	1,3-4,5	1,0-4,5	10-20	0-0,5

j) Fall Nr. 1102/67

Diagnose: Struma congenita

Ductus Botalli arteriosus persistens

Serum-Enzymbestimmung am 1. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	27,6	5,82	5,40	0,3	573	423	1,6	1,8	16,5	0,44
Mittel- werte	21,5	3,70	4,59	0,34	517	211	2,6	1,7	20,2	0
Normal- bereich	18-23,1	2,89-4,5	3,6-6,4	0,12-0,64	286-736	125-384	1,5-3,6	1,4-1,9	16-22,5	0-0,5

k) Fall Nr. 1134/67

Diagnosen: Spina bifida

Meningocele

Skoliose

Brachyurie

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	11,2	2,2	7,0	0,67	315	148	1,0	6,8	18	0
werte										
Mittel-	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
werte										
Normal-	13,5-	2,2-	1,86-	0,05-	315-	98-	1,3-	1,0-	10-	0-0,5
bereich	24,5	4,5	7,55	0,54	764	552	4,5	4,5	20	

l) Fall Nr. 1149/67

Diagnosen: Peromelie vo. 1.

Notomelie vo. 1.

Serum-Enzymbestimmung am 14. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	17,3	3,8	2,72	0,32	623	326	2,8	6,9	23,5	0
wert										
Mittel-	16	3,15	4,79	0,27	508	256	2,4	2,8	18,4	0
werte										
Normal-	11,2-	2,2-	3,55-	0,1-	415-	128-	1,4-	1,1-	13-	0-0,5
bereich	28,2	4,5	8,67	0,46	760	520	3,4	5,6	18	

m) Fall Nr. 1165/67

Diagnosen: Encephalocele

Lien duplex

Serum-Enzymbestimmung am 2. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	42,5	11,2	2,64	0,76	454	390	3,1	0,2	50	0
werte										
Mittel-	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
werte										
Normal-	13,5-	2,2-	1,86-	0,05-	315-	98-	1,3-	1,0-	10-	0-0,5
bereich	24,5	4,5	7,55	0,54	764	552	4,5	4,5	20	

n) Fall Nr. 1180/67

Diagnose: Atresia ani

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	22	4,5	4,8	0,40	640	69	3,6	1,1	2,1	0,1
Mittel- werte	15,4	4,38	5,27	0,3	533	423	2,4	2,8	17,3	0
Normal- bereich	11,2-18,6	3,35-5,6	3,9-6,35	0,03-0,81	286-700	146-788	0,8-3,4	0,9-5,9	9,8-2,5	0-0,5

h) Fall Nr. 1122/67

Diagnose: Hydrocephalus internus

Serum-Enzymbestimmung am 8. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	20,89	2,89	6,05	0,3	507	198	4,2	2,2	15	0,6
Mittel- werte	16,5	3,28	4,16	0,17	494	367	3,2	2,7	18,7	0
Normal- bereich	11,2-20,2	1,54-2,1	1,27-6,35	0,06-0,38	316-602	98-784	2,0-5,4	1,8-4,4	15-26	0-0,5

i) Fall Nr. 1110/67

Diagnose: Atresia ani

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	25,25	10,32	4,56	0,80	792,8	355	1,7	0,7	28,4	0
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5-24,5	2,2-4,5	1,86-7,55	0,03-0,81	315-764	98-552	1,3-4,5	1,0-4,5	10-20	0-0,5

j) Fall Nr. 1102/67

Diagnose: Struma congenita

Ductus Botalli arteriosus persistens

Serum-Enzymbestimmung am 1. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	27,6	5,82	5,40	0,3	573	423	1,6	1,8	16,5	0,44
Mittel- werte	21,5	3,70	4,59	0,34	517	211	2,6	1,7	20,2	0
Normal- bereich	18-23,1	2,89-4,5	3,6-6,4	0,12-0,64	286-736	125-384	1,5-3,6	1,4-1,9	16-22,5	0-0,5

k) Fall Nr. 1134/67

Diagnosen: Spina bifida

Meningocele

Skoliose

Brachyurie

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	11,2	2,2	7,0	0,67	315	148	1,0	6,8	18	0
werte										
Mittel-	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
werte										
Normal-	13,5-2,2-	1,86-	0,05-	315-	98-	1,3-	1,0-	10-	0-0,5	
bereich	24,5	4,5	7,55	0,54	764	552	4,5	4,5	20	

l) Fall Nr. 1149/67

Diagnosen: Peromelie vo. l.

Notomelie vo. l.

Serum-Enzymbestimmung am 14. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	17,3	3,8	2,72	0,32	623	326	2,8	6,9	23,5	0
wert										
Mittel-	16	3,15	4,79	0,27	508	256	2,4	2,8	18,4	0
werte										
Normal-	11,2-2,2-	3,55-	0,1-	415-	128-	1,4-	1,1-	13-	0-0,5	
bereich	28,2	4,5	8,67	0,46	760	520	3,4	5,6	18	

m) Fall Nr. 1165/67

Diagnosen: Encephalocele

Lien duplex

Serum-Enzymbestimmung am 2. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym-	42,5	11,2	2,64	0,76	454	390	3,1	0,2	50	0
werte										
Mittel-	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
werte										
Normal-	13,5-2,2-	1,86-	0,05-	315-	98-	1,3-	1,0-	10-	0-0,5	
bereich	24,5	4,5	7,55	0,54	764	552	4,5	4,5	20	

n) Fall Nr. 1180/67

Diagnose : Atresia ani

Serum-Enzymbestimmung am 3. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	67	15,7	1,59	0,49	384	808	8,6	0,5	73	0
Mittel- werte	18,7	3,35	4,08	0,3	554	282	2,7	3,4	15,5	0
Normal- bereich	13,5- 24,5	2,2- 4,5	1,86- 7,55	0,05- 0,54	315- 764	98- 552	1,3- 4,5	1,0- 4,5	10- 20	0-0,5

o) Fall Nr. 1203/67

Diagnose: Membrana pupillaris persistens

Serum-Enzymbestimmung am 28. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	49	9	1,25	0,73	736	254	8,9	29,0	17	0
Mittel- werte	14,5	2,48	4,15	0,2	509	116	3,5	3,0	13,8	0
Normal- bereich	13- 18	1,6- 3,81	2,1- 5,34	0,03- 0,42	450- 625	98- 157	2,2- 4,6	1,2- 4,6	9,4- 17	0-0,5

p) Fall Nr. 1194/67

Diagnose: Bauchdeckenaplasie

Hypospadie

Kryptorchismus

Serum-Enzymbestimmung am 14. Lebenstag

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
Enzym- werte	38,0	16,39	1,94	0,24	1050	296	5,9	2,8	40	0,55
Mittel- werte	16	3,15	4,79	0,27	508	256	2,4	2,8	18,4	0
Normal- bereich	11,2- 28,2	2,2- 4,5	3,55- 8,67	0,1- 0,46	415- 760	128- 520	1,4- 3,4	1,1- 5,6	13- 18	0-0,5

D. Diskussion

1. Die Übersichtstafeln der Serumenzyme der untersuchten gesunden Kälber zeigen, daß mit Ausnahme des Fermentes MDH die Extremwerte von den ermittelten Normalwerten nur verhältnismäßig gering abweichen. Dies zeigt, daß der für das Auftreten von Zellenzymen verantwortliche physiologische Zellumsatz (E. und F... SCHMIDT) schon während der ersten Entwicklungszeit konstant ist, und die Serumenzym-Aktivitätskontinuität erhalten bleibt. Auch in der weiteren Entwicklung kommt es zu keiner plötzlichen Aktivitätsänderung-

Die Aktivitätsmessungen der Fermente weisen am ersten Lebenstag der Kälber bereits einen gleich hohen Wert wie zu einem späteren Zeitpunkt auf. Dies ist ein Zeichen dafür, daß der Intermediärstoffwechsel vor und nach der Geburt im gleichen Maße aufrechterhalten wird. Die Synthese von Zellenzymen wird also nicht erst durch äußere Faktoren, wie zum Beispiel Ernährung und Haltung hervorgerufen.

Die Feststellung von STÖCKLE, LUSCHIN, ZACHERL und WIESER (1965), daß es zu einem konstanten Aktivitätsabfall der GOT von der Geburt bis zum Alter von 22 Tagen kommt, konnte nicht in allen Fällen bestätigt werden.

Unsere gefundenen GOT-Werte, die unter diesen angegebenen Werten liegen, nehmen im Großen und Ganzen von der Geburt an ab, doch sind auch dem entgegengesetzte Werte, zum Beispiel bei Kalb IV, vorhanden.

Bei anderen Fermenten läßt sich mit zunehmendem Alter keinerlei Konzentrationsänderung feststellen.

Die gefundenen GOT- und GPT-Werte stimmen weitgehend mit den von BLINCOE und DYE, KUTTLER und MARBLE sowie von CORNELIUS und Mitarbeitern angegebenen Werten überein (Tab. 3). Vergleichswerte für andere Fermente sind bei neugeborenen Kälbern bis jetzt noch nicht erarbeitet worden.

Unterschiede der Enzymwerte bei männlichen und weiblichen Kälbern wurden nicht bemerkt. Dahingehende statistisch nicht gesicherte Feststellungen von FEISLI, FORSTER, LAUDAHN, E. und F.W. SCHMIDT (1966) in der Humanmedizin können für das Rind

nicht bestätigt werden.

Die erste einschneidende Futterumstellung fand bei meinem Material am 10. (bzw. 14.) Lebenstag durch Übergang von Muttermilch auf Milchaustauschpräparate statt. Dabei konnte eine Reaktion der Fermentaktivitäten bei keinem Tier und für keines der gemessenen Enzyme ermittelt werden.

2. Wie orientierende Untersuchungen an Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien der verschiedenen Kategorien ergeben haben, wichen bei 16 Tieren von den 10 gemessenen Fermenten ein oder mehrere Aktivitäten von der Norm ab. Diese erhöhten oder erniedrigten Serumenzymwerte sind bei verschiedenen und auch bei gleichen Anomalien vorhanden. Es ist demnach anzunehmen, daß Organzellen geschädigt sind und Fermente mehr oder weniger intensiv in das Blut austreten.

Auf welches geschädigte Organ der Austritt der Fermente im Serum zurückzuführen ist, kann in den meisten Fällen nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Es können hierbei sowohl mißgebildete Organe selbst beteiligt sein oder ursprünglich gesunde Organe wurden sekundär durch vorhandene congenitale Anomalien bzw. perinatale Infektionen geschädigt.

Aus anormal angelegten Organen werden wahrscheinlich nur dann Fermente erhöht oder erniedrigt abgegeben, wenn es gleichzeitig zu einer Zellschädigung gekommen ist. Dies ist zum Beispiel bei Kälbern mit Anomalien der Muskulatur, wie bei Arthrogrypose oder Bauchdeckenaplasie, der Fall. In diesen Fällen konnte das muskelspezifische Ferment C. P. K. regelmäßig im Serum gefunden werden. Bei normalen Kälbern und solchen mit Mißbildungen anderer Kategorien war dies nicht der Fall.

Bei angeborenen Anomalien, bei denen keine Organschäden vorausgesetzt werden können, sind keine Enzymanstiege im Serum zu erwarten. So bewegen sich z.B. alle untersuchten Fermente eines Kalbes mit Notomelie und Peromelie in den gefundenen physiologischen Grenzen.

Die von RHODES, URMAN, MARSH und GRACE (1962) bei dem von ihnen beschriebenen Hydrocephalussyndrom der Kälber (Herefords und Ayrshires) gefundenen bedeutend erhöhten Aldolase-, LDH-, GOT-, GPT- und MDH-Werten konnte ich bei dem von mir untersuchten Kalb mit diesem Syndrom (Deutsche Schwarzbunte) nicht

bestätigen.

Bei Kälbern mit Enddarmanomalien (Stenosen, Atresien) kommt es durch Koprostase zur Autointoxikation mit Leberschädigung. Demgemäß sind infolge sekundären Organschädigungen die Fermente, die auch in der klinischen Diagnostik der Lebererkrankungen verwendet werden, bei allen untersuchten Kälbern mit Atresia ani bedeutend erhöht.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß es bei Kälbern mit bestimmten angeborenen Störungen zu einer Veränderung der Aktivität gewisser Fermente kommen kann. Um eine sichere Aussage in dieser Richtung machen zu können, sind jedoch weitere Bestimmungen einer bedeutend größeren Zahl von Fermenten in Verbindung mit pathologischen und histologischen Untersuchungen sowohl der normalen als auch der mißgebildeten Gewebe an einem größeren Material notwendig.

Vorliegende Untersuchungen dienen der Vorbereitung des Einbaues der Enzymologie in die Ursachenforschung der Mißbildungen, da das Gebiet der Serumenzyme beim neugeborenen Kind als Neuland zu betrachten ist. Die Bestimmung der Enzymwerte des Normalbereiches stand demnach im Vordergrund der Arbeit. Das weitergesteckte Ziel enzymologischer Untersuchungen zur Klärung teratologischer Prozesse, das heißt die Aufdeckung von Enzymdefekten als Ursachen von embryonalen Entwicklungsstörungen konnte nur in einigen Testversuchen berührt werden. Dabei ergaben sich keine Anhaltspunkte für das Vorliegen von primären Enzymdefekten als Ursache von Mißbildungen.

E. Zusammenfassung

1. Bei schwarzbunten, neugeborenen, klinisch gesunden Kälbern wurden folgende Serumfermente bestimmt:

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	Malat-Dehydrogenase
Glutamat-Pyruvat-Transaminase	Sorbit-Dehydrogenase
Alkalische Phosphatase	Glutamat-Dahydrogenase
Saure Phosphatase	Aldelase
Lactat-Dehydrogenase	Creatin-Phosphokinase

2. Die gefundenen Werte erwiesen sich unabhängig von Geschlecht, Ernährung und Haltung, teilweise sind altersmäßige Schwankungen festzustellen.

3. Bei 17 Kälbern mit verschiedenen morphologischen Anomalien (Mißbildungen) wurden die Aktivitäten derselben Fermente gemessen. Es zeigt sich, daß sich in diesen Fällen die Aktivitäten eines oder mehrerer Fermente im Vergleich zu den Normalwerten ändern. Eine sichere Aussage über die Ursachen ist jedoch nach diesen zunächst rein orientierenden Untersuchungen nicht möglich. Aktivitätsänderungen von Serumenzymen mißgebildeter Kälber können auch sekundärer Natur sein, so daß primäre Enzymdefekte, die als Ursache von embryonalen Entwicklungsstörungen gelten können, nicht nachgewiesen werden konnten.

F. Anhang

I. Versuchsprotokolle

1. Kalb I

- a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte
- b) Alter: geb. am: 16.1.1967
- c) Geschlecht: weiblich
- d) Versuchsbeginn: 23.12.1966

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
9 h.p.P. nüchtern	20,2	4,04	6,4	0,52	367	157	2,5	1,5	19,2	0
3.Tg.p.P	22,5	4,5	7,55	0,36	431	266	0,2	6,8	28,0	0,1
6.Tg.p.P	18,6	4,5	6,35	0,81	431	185	0,8	5,9	18,6	0,1
9.Tg.p.P	20,2	5,1	6,35	0,14	570	171	5,4	4,1	20,0	0,4
12.Tg.p.P	22	4,5	3,93	0,14	720	64	4,4	4,45	23,0	0,3
15.Tg.p.P	17,1	2,95	7,75	0,34	1241	146	2,4	1,8	9,0	0
21.Tg.p.P	20,5	3,58	5,34	0,29	740	591	4,4	6,1	21,5	0

2. Kalb II

- a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte
- b) Alter: geb. am: 3.1.1967
- c) Geschlecht: männlich
- d) Versuchsbeginn: 3.1.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
3h.p.P nüchtern	22,5	3,58	4,32	0,12	573	191	2,6	1,8	22	0
5.Tg.p.P	20,2	2,2	2,84	0,05	630	285	1,3	1,0	20	0
6.Tg.p.P	13,5	5,22	3,99	0,03	700	148	1,7	1,8	17	0
9.Tg.p.P	18,0	3,58	4,87	0,1	573	111	2,2	4,4	15	0
12.Tg.p.P	14,8	2,2	4,85	1,71	669	127	1,8	1,2	28	0,1
15.Tg.p.P	13,5	3,58	3,55	0,14	602	296	1,4	1,1	28,4	0
18.Tg.p.P	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
21.Tg.p.P	10,3	2,2	3,5	0,04	440	945	2,4	2,4	15,8	0
24.Tg.p.P	14,2	2,2	3,28	0,02	573	696	3,1	3,6	10,6	0
27.Tg.p.P	13,7	1,6	4,14	0,1	625	945	4,0	3,1	9,4	0
30.Tg.p.P	14,2	2,89	4,62	0,28	526	197	4,4	5,6	17,4	0

Bemerkungen: Am 18. Tag p.P wurde keine Blutprobe vorgenommen, da das Tier erkrankt war.

3. Kalb III

a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte

b) Alter: geb. am: 16.1.1967

c) Geschlecht: männlich

d) Versuchsbeginn: 16.1.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
6h _{p.P} nüchtern	18	3,58	3,48	0,34	602	296	2,8	1,5	22,5	0
3.Tg.p.P	13,5	2,2	4,68	0,31	410	552	2,8	2,1	12	0
6.Tg.p.P	17,1	3,58	4,80	0,1	612	648	3,4	3,8	17,3	0
9.Tg.p.P	14,8	2,2	4,40	0,06	478	690	3,1	1,7	17	0
12.Tg.p.P	10,3	3,58	5,30	0,23	526	847	1,6	1,2	25,5	0
15.Tg.p.P	14,2	2,2	4,42	0,1	631	1044	1,9	2,1	17,0	0
18.Tg.p.P	11,7	2,2	4,99	0,17	470	341	2,7	1,1	11,4	0
21.Tg.p.P	10,5	1,54	5,04	0,33	573	128	2,7	1,0	17,5	0
24.Tg.p.P	14,2	1,54	1,53	0,1	602	120	3,2	5,2	15,5	0
27.Tg.p.P	13,5	2,2	5,16	0,03	602	157	3,8	2,9	12	0
30.Tg.p.P	18	2,89	6,60	0,06	573	69	5,5	2,7	13	0

4. Kalb IV

a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte

b) Alter: geb. am: 16.1.1967

c) Geschlecht: weiblich

d) Versuchsbeginn: 16.1.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
3h _{p.P} nüchtern	22,5	3,58	4,56	0,36	613	125	3,6	1,8	17	0
3.Tg.p.P	24,5	6,7	9,0	0,54	698	296	4,5	4,5	14,2	0,5
6.Tg.p.P	11,2	3,35	3,9	0,1	565	551	2,4	1,2	15,7	0
9.Tg.p.P	17,5	2,2	4,6	0,23	602	945	3,6	2,4	15	0
12.Tg.p.P	20,9	2,89	4,2	0,26	621	886	4,9	3,2	17,4	0
15.Tg.p.P	28,2	2,2	9,2	0,23	631	1507	1,9	5,6	17	0
18.Tg.p.P	24,5	2,89	5,68	0,3	412	591	7,9	5,0	28,0	0
21.Tg.p.P	9,7	1,54	5,08	0,44	545	167	2,0	1,0	21,5	0
24.Tg.p.P	20,2	3,61	3,18	0,11	536	128	4,9	3,1	19,0	0
27.Tg.p.P	10,0	2,89	4,32	0,38	450	90	3,4	2,7	17,0	0
30.Tg.p.P	10,7	4,5	4,75	0,12	940	266	2,8	1,5	17,5	0,20

5. Kalb V

a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte

b) Alter: geb. am: 17.1.1967

c) Geschlecht: weiblich

d) Versuchsbeginn: 17.1.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
5h _p .P	22,7	6,7	5,3	0,64	440	384	1,5	1,90	16	0
nüchtern										
3.Tg.p.P	17,1	4,5	6,77	0,21	631	138	1,9	1,5	10	0
6.Tg.p.P	17,1	5,6	5,3	0,13	631	492	3,2	0,9	9,8	0
9.Tg.p.P	14,8	4,5	4,8	0,2	507	784	2,4	1,8	18,2	0
12.Tg.p.P	15,7	2,2	4,7	0,25	671	846	1,5	1,2	16,2	0
15. g.p.P	14,6	2,2	5,07	0,46	726	520	2,6	0,7	13,0	0
18.Tg.p.P	14,2	2,89	5,68	0,30	412	492	2,1	1,5	28,0	0
21.Tg.p.P	13,4	5,82	7,9	0,25	530	520	4,8	5,2	18,0	0
24.Tg.p.P	10,1	2,2	1,75	0,1	470	167	3,9	3,9	17,3	0
27.Tg.p.P	15,0	3,81	5,84	0,15	453	98	4,6	4,6	11,0	0
30.Tg.p.P	20,2	1,75	4,98	0,24	793	197	5,8	4,1	20,5	0

6. Kalb VI

a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte

b) Alter: geb. am: 2.2.1967

c) Geschlecht: männlich

d) Versuchsbeginn: 2.2.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
7h _p .P	9,0	4,5	3,6	0,25	286	1526	2,0	1,40	25	0
nüchtern										
3.Tg.p.P	17,1	4,5	7,7	0,37	764	341	2,9	3,2	11,4	0,5
6.Tg.p.P	17,1	4,5	6,05	0,59	507	148	3,2	2,1	25	0
9.Tg.p.P	11,2	1,54	1,27	0,06	412	346	2,0	1,8	26	0
12.Tg.p.P	15,0	2,2	8,4	0,43	450	197	1,8	4,1	13,5	0
15.Tg.p.P	16,4	2,89	8,67	0,23	470	128	3,1	2,4	18,4	0,1
18.Tg.p.P	20,2	1,32	6,0	0,2	507	83	3,7	4,6	14,6	0,3
21.Tg.p.P	13,5	1,34	5,06	0,06	573	325	3,6	2,9	15,4	0
24.Tg.p.P	16,4	2,89	6,6	0,24	561	69	3,5	3,8	17	0
27.Tg.p.P	13,0	2,2	5,34	0,42	450	98	2,9	3,7	17	0
30.Tg.p.P	11,2	2,89	4,8	0,27	478	118	2,8	3,5	16,6	0,2

7. Kalb VII

a) Rasse: Deutsche Schwarzbunte

b) Alter: geb. am: 14.3.1967

c) Geschlecht: männlich

d) Versuchsbeginn: 14.3.1967

Serumenzym-Werte

	GOT	GPT	AP	SP	LDH	MDH	SDH	GLDH	ALD	CPK
12h p. P nüchtern	23,1	2,89	4,44	0,14	736	2560	2,9	0,3	19,4	0,2
3.Tg.p.F	15,7	2,2	1,86	0,24	315	98	2,7	1,5	13,0	0
6.Tg.p.F	13,5	3,9	6,5	0,37	286	788	1,9	3,9	17,8	0
9.Tg.p.P	10,7	3,81	2,0	0,38	316	98	4,0	6,3	19,8	0,2
12.Tg.p.F	14,2	2,2	3,64	0,38	384	128	3,2	2,2	17	0,3
15.Tg.p.F	13,8	4,5	5,28	0,46	415	197	3,4	2,9	17	0
18.Tg.p.P	13,9	2,2	1,8	0,42	450	98	2,5	4,4	17	0
21.Tg.p.P	15,7	2,2	1,8	0,48	454	98	2,5	4,4	17	0
24.Tg.p.F	15,7	2,89	1,8	0,41	454	98	1,7	1,8	19	0
27.Tg.p.P	13,5	2,2	2,1	0,13	478	128	2,2	1,2	16,2	0
30.Tg.p.F	13,2	2,2	2,2	0,29	430	128	2,4	1,4	15,7	0

G. Literaturverzeichnis

- Aebi, H. Enzyme-Enzymdefekte
Das medizinische Prisma 1963, Nr. 10
- Ammon, R. Fermente-Hormone-Vitamine
Myrbäck, K. Stuttgart: Georg Thieme 1959
- Beadle, G.W. Genetic control of biochemical reactions
Tatum, E.L. in *Neurospora*
Proc. NAS. 27, (1941) S. 499 - 506
- Bergmeyer, H.U. Methoden der enzymatischen Analyse
Weinheim: Verlag Chemie 1962
- Beyreder, J. Klinische Erfahrungen mit dem Ferment-
Kettenbacher-Däubner-H. nachweis im Serum
Wien.Klin.Wschr. 71, (1959) S. 686-692
- Blakly, R.L. Metabolism and antiketogenic effects
of sorbitol. Sorbitol dehydrogenase
Biochem. J. 49 (1951) S. 257 - 271
- Blanco, A. Science, Washington 139 (1963) S. 601-602
Zinham, W.H. Lactal Dehydrogesase in Human Testes
- Blincoe, C. Serum transaminase in white muscle
Dye, W.B. disease
J. Animal Sci. 17 (1958) S. 224-226
- Braunitzer, G. Über den Ort des spezifischen Austausches
Milschmann, N. von Aminosäuren in der β -Kette bei
Müller, R. pathologischen menschlichen Hämoglobien
Zschr. physiol. chem. 318 (1960) S.284-287
- Brenner, S. The mechanism of gene action
in: Biochemistry of Human Genetics
Ciba Found. Sym. Churchill, London 1959
- Bücher, Th. Wege des Wasserstoffes in der lebendigen
Klingenberg, M. Organisation
Angew. Chem. 70, (1958) S. 552-570
- Cornelius, C.E. Serum and tissue transaminase activities
Bishop, J. in domestic animals
Switzer, J. Cornell Vet. 49 (1959) S. 116 - 126
Rhode, E.A.
- Bücher zit. nach: Methoden der enzymatischen
baum Analyse
hrsg. von H.U. Bergmeyer
Weinheim: Verlag Chemie 1962
- Bücher, Th. Enzyme unter biologischem Aspekt
In: Erbliche Stoffwechselkrankheiten
hrsg. von F. Linneweh
München: Urban und Schwarzenberg 1962

- Büchner, F. Experimentelle Entwicklungsstörungen durch allgemeinen Sauerstoffmangel
Klin. Wschr. 1948, S. 38 - 42
- Büchner zit. nach: Grundriß der phys. Chemie für Veterinärmediziner, Humanmediziner und Biologen
hrsg. von M. Schenck und E. Kolb
Jena: Gustav Fischer 1961
- Cahn, R.D. Nature and development of lactic dehydrogenase
Kaplan, N.O. Science, Washington 136 (1962) S. 962
Levine, L.
Zwilling, E.
- Camarata, P.S. Fractionation and properties of glutamic-oxalacetic transaminase
Cohen, Ph. P. J. Biol. Chem. 193 (1951) S. 53 - 62
- Feissli, S. Normal-Werte und Alterung von Hauptketten-Enzymen im Serum
Forster, G. Klin. Wschr. 44 (1966) S. 390 - 396
Laudan, G.
Schmidt, E.
Schmidt, F.W.
- Fuhrmann, W. Taschenbuch der allgemeinen und klinischen Humangenetik
Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1965
- Garrod, A.E. Inborn errors of metabolism
Second Edition
Oxford: University Press 1923
- Gerber, H. Aktivitätsbestimmung von Serumenzymen in der Veterinärmedizin
Schweiz. Arch. Tierhk. 105 (1963) S. 85 - 124
- Goldschmidt Gen und Außeneigenschaft (Untersuchungen an Drosophila) I und II
Z. Vererbungslehre 69 (1935) S. 38-69, 70 - 131
- Gould, C.M. Serumtransaminase activity in cattle
Grimes, F.C. Vet. Rec. 71 (1959) S. 586
- Gren, L. Über die Glutamat-Pyruvat-Transaminase aus Schweineherzen
Pfleiderer, G. Biochem. Z. 330 (1958) S. 433-445
- Gründer, H.D. Der diagnostische Wert einiger Leberuntersuchungsmethoden beim Rind unter besonderer Berücksichtigung der Serumtransaminasebestimmung
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 68 (1961) Nr. 23, S. 677 - 682

- Gürtler, H.
Richter, H. Zur Kenntnis der Transaminasen im Serum von Pferd, Rind und Schwein
Zbl. Vet. Med. 6 (1959) Nr. 8, S. 705
- 713
- Hadorn, E. Letalfaktoren
Stuttgart: Georg Thieme 1955
- Haederle, I. Untersuchungen über die Verträglichkeit von parenteral appliziertem Tetrachlor-
kohlenstoff beim Rind unter Zuhilfenahme
moderner Untersuchungsmethoden
Vet. med. Diss., München 1963
- Henke, K.
v. Finck, E.
Ma, S.Y. Über sensible Perioden für die Auslö-
sung von Hitzemodifikationen bei
Drosophila und die Beziehungen zwischen
Modifikationen und Mutationen
Z. Vererbungslehre 79 (1941) S. 267 -
316
- Huhn, F.E. Leberfunktionsstörungen und Leberfunk-
tionsproben beim Rind
Zbl. Vet. Med. 8 (1961) S. 842 - 847
- Huhn, J.E. Die Brauchbarkeit einiger Laborunter-
suchungen zur Leberdiagnostik beim Rind
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 74
(1961) Nr. 16, S. 308 - 312
- Information Boehringer Lactat-Dehydrogenase
Mannheim: Biochem. Abt. C.F. Boehringer
& Söhne GmbH, 1965
- Jacob, F.
Perrin, D.
Sanchez, C.
Monod, J. L'opéron: groupe de gènes à expression
coordonnée par un opérateur
Compt. rend. séanc. Acad. Sci. 250
(1960) S. 1727 - 1729
- Karlson, P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Medi-
ziner und Naturwissenschaftler
Stuttgart: Georg Thieme 1962
- Kaudewitz, F. Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese
In: Erbliche Stoffwechselkrankheiten
hrsg. von F. Linneweh
München. Berlin: Urban und Schwarzen-
berg 1962
- Kennedy, E.P.
Lehninger, A.L. Oxidation of fatty acids and tricarboxy-
lic acid cycle intermediates by isolated
Rat liver mitochondria
J. biol. Chemistry 179 (1949) S. 957-972
- Kuby, S.A.
Noda, L.
Lardy, H.A. Adenosintriphosphatate-Creatin-Transphos-
phorylase
J. Biol. Chem. 210 (1954) S. 83 -95

- Kuttler, K.L.
Marble, D.W. Relation-ship of serum transaminase to naturally occurring and artificially induced unite muscle disease in calves and lambs
Amer. J. Vet. Res. 19 (1958) S. 632
- Landauer, W. On the chemical production of development abnormalitis and of phenocopies in chicken embryos
J. Cell. Comp. Physiol. 43, (1954) Suppl. 1, S. 261 - 305
- Lenz, W. Medizinische Genetik
Stuttgart: Georg Thieme 1961
- Lohmann Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion
Biochem. Z. 271 (1934) S. 264 - 277
- Leuthardt, F. Lehrbuch der physiologischen Chemie
Berlin: Walter De Gruyter & Co. 1963
- Linneweh, F. Erbliche Stoffwechselkrankheiten
München und Berlin: Urban und Schwarzenberg 1962
- Maderova, V.
Sindelarova, K.
Neumann, V. Das Studium des hepatotoxischen Einflusses therapeutischer Dosen von Tetrachlorkohlenstoff und Hexachloräthansuspensionen, die bei der Fasciolose des Kindes angewendet werden
Sbornik Vysoke Skoly Zemedelske V BRNE, Nr. 3 - 4 (1961)
- Malherbe, W.D. The value of determination of transaminase activity in plasma is a screening test for liver disease in animals
J. South. Afr. Vet.-med. 31 (1960) S. 159 - 171
- Nydicke, I.
Rueggsegger, P.
Problewski, F.
LA Due, J.S. Variations in serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in experimental and clinical coronary insufficiency, pericarditis and pulmonary infarction
Circulation 15 (1957) S. 324-334
- Prader, A.
Auricchio, S. Saccharose-Intoleranz
In: Erbliche Stoffwechselkrankheiten hrsg. von F. Linneweh
München - Berlin: Urban und Schwarzenberg 1962
- Rapoport, H. On the synthesis of gene-products in equimolar quantities
Amer. Nat. 81 (1947) S. 30 - 37

- Recknagel, R.O.
Anthony, D.D. Biochemical changes in karbon tetra-
chlorid fatty liver: separation of
fatty changes from mitochondrial
degeneration
J. biol. Chemistry 234 (1959), S.1052-1059
- Rhodes, M.B.
Urmann, H.h.
Marsh, C.H.
Grace, O.D. Serum enzyme studies of a hydro- cephalic
syndrom of new-born calves
Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 111 (1962),
S. 735 - 737
- Richterich, R. Klinische Diagnostik
Frankfurt: Akademische Verlagsgesell-
schaft 1965
- Schenck, M.
Kolb, E. Grundriß der physiologischen Chemie
für Veterinärmediziner, Humanmediziner
und Biologen
Jena: Gustav Fischer 1961
- Schmidt, E.
Schmidt, F.W. Grundfragen der Enzymdiagnostik
Mannheim: C.F. Boehringer & Söhne
GmbH, Biochemische Abteilung, Eigenver-
lag 1965
- Schole, J. Theorie der Stoffwechselregulation
unter besonderer Berücksichtigung der
Regulation des Wachstums
Berlin - Hamburg: Paul Parey 1966 = Bei-
heft 5 zum Zentralblatt für Veterinär-
medizin
- Schreier, K. Die angeborenen Stoffwechselanomalien
Stuttgart: Georg Thieme 1962
- Sommer, H.
Schneider, W. Änderungen der Aktivität einiger Enzy-
me im Rinderserum nach Verabreichung
von Neuroplegia
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 78
(1965) Nr. 8, S. 141 - 144
- Stöckle, W.
Luschin, B.
Zacherl, M.K.
Wieser, M. Vergleichende Serumuntersuchungen bei
Kühen vor und nach der Geburt und bei
deren Kälbern
Zbl. Vet. Med. 12 (1965) S. 400 - 404
- Straub, F.B. Reinigung der Apfelsäuredehydrogenase
und die Bedeutung der Zellstruktur in
der Apfelsäuredehydrierung
Z. physiol. Chem. 275 (1942) S. 63 - 72
- Sumner zit. nach Schenk und Kolb
Grundriß der physiologischen Chemie
für Veterinärmediziner, Humanmediziner
und Biologen
Jena: Gustav Fischer 1961

- Wachsmuth, E.D.
Pfleiderer, G. Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactatdehydrogenase menschlicher Organe
Biochem. Z. 334 (1961) S. 185 - 198
- Wachsmuth, E.D.
Pfleiderer, G.
Wieland, Th. Aminosäurezusammensetzung von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen und tierischen Organen
Biochem. Z. 340 (1964) S. 80 - 94
- Warburg, O.
Christian, W. Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nucleotide)
Biochem. Z. 287 (1936), S. 291 - 328
- Warburg, O.
Christian, W. Isolierung und Kristallation des Gärungsfermentes Zymohexase
Biochem. Z. 314 (1943), S. 149 - 176
- Warkany, J. Conclusions of the workshop and aspects of future teratological studies
International Workshop in Teratology Copennagen 1966
- Watson, J.D.
Crick, F.H.C. A structure of desoxyribose nucleic acids
Nature 171 (1953) S. 737 - 738
- Williams-Ashmann, H.G.
Banks, J. The ketose Reductase of Rat Liver and Accessory Sexual Organs
Arch. Biochem. Biophysics 50 (1954), S. 513 - 517
- Wroblewski, F.
La Due, J.S.
Karmen, A. Serum glutaminoxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarktion
Science 120 (1954), S. 497 - 499
- Wroblewski, F.
Jervis
La Due, J.S. SGPT in cardiac and hepatic disease
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 91 (1956), S. 569 - 571
- Würzner, P. Einblicke in die neuere Enzymdiagnostik der Veterinärmedizin
Tierärztl. Umschau 19 (1964) Nr. 10, S. 511 - 516
- Zierler, K.L. Increased muscle permeability to aldolase produced by insulin and by albumin
Amer. J. Physiol. 192 (1958) S. 283-286

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G.W. Rieck möchte ich für die Überlassung des Themas, den mir bei der Abfassung der Arbeit stets entgegengebrachten Rat, sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. Dr. W. Boguth danke ich dafür, daß ich in seinem Institut die Grundlagen der Untersuchungsmethodik erarbeiten durfte.

Für die Erlaubnis, Tiere aus dem Institut für Tierzucht und Haustiergenetik untersuchen zu dürfen, schulde ich Herrn Prof. Dr. L. Krüger Dank.

Ebenfalls möchte ich mich bei allen Institutsangehörigen, insbesondere Herrn Dr. K.H. Finger und Herrn Dr. A. Herzog danken, die mir mit ihrem Rat stets behilflich waren.

Diese Arbeit wurde mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

